Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

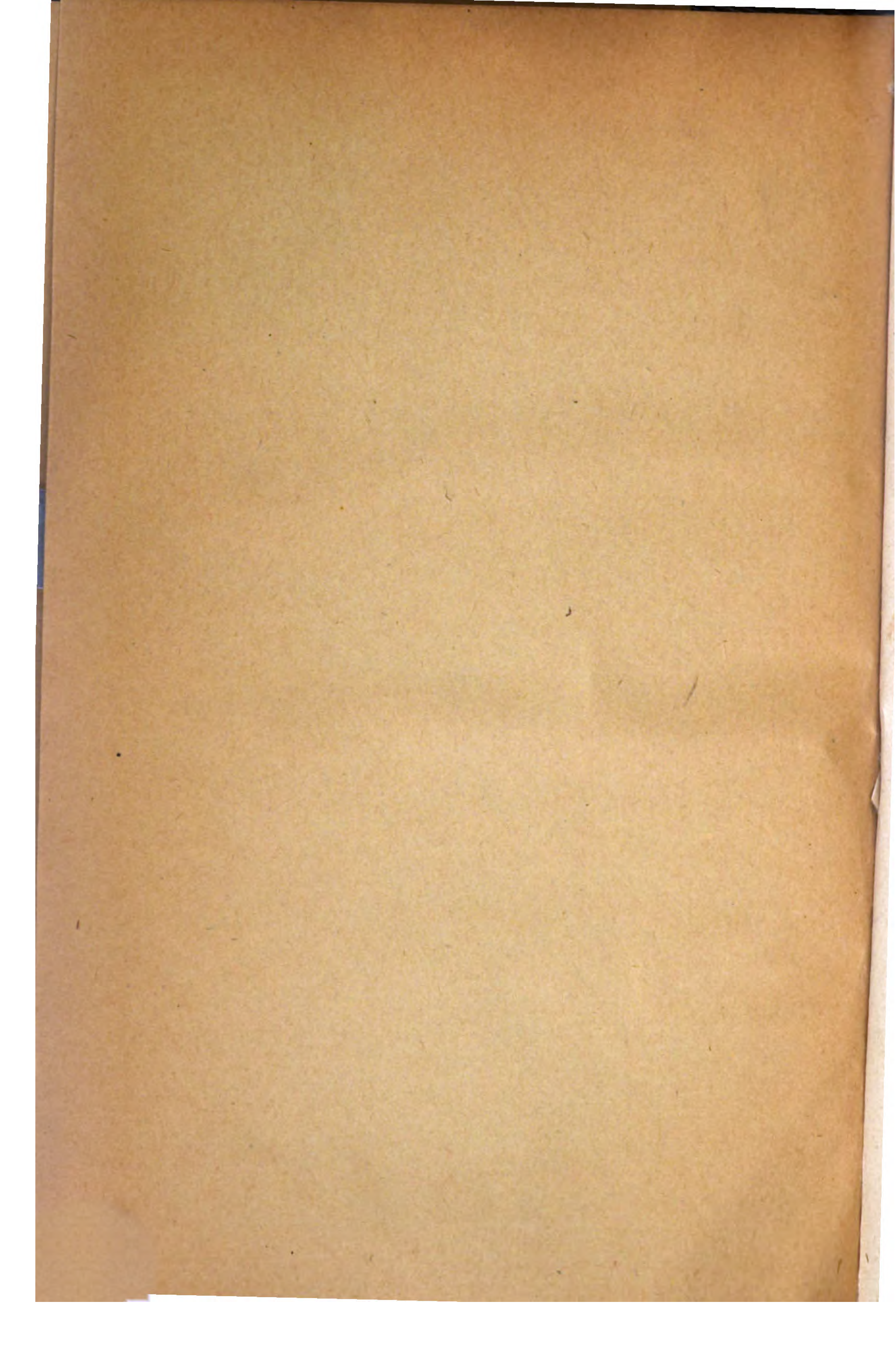
Neunundsechzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1915.



PAGE NOT
AVAILABLE



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Neunundsechzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1915.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Zur Frage der Elektrokultur.

Von

Walther Löb.

I. Mitteilung.

Die Beeinflussung von Enzymreaktionen durch die stille Entladung.

Von

Walther Löb und A. Sato.

(Aus der biochemischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 8. Dezember 1914.)

Mit 2 Figuren im Text.

Unter Elektrokultur versteht man die praktischen Versuche, den Einfluß der Elektrizität auf das Wachstum der Pflanzen in der Landwirtschaft nutzbar zu machen. Bei der Durchsicht der über diesen Gegenstand vorhandenen Literatur findet man, daß gegenüber den Verfechtern einer günstigen Wirkung der Elektrizität auf das Pflanzenwachstum von anderer Seite experimentell gestützte Bedenken über das Bestehen eines Einflusses der Elektrizität auf das Wachstum der Pflanzen geäußert werden. Ohne auf die früheren Arbeiten[1]), deren Inhalt mit Ausnahme des Ausgangspunktes in keiner Beziehung zu den vorliegenden Untersuchungen steht, einzugehen, läßt sich ihr Resultat dahin zusammenfassen, daß die ganze Frage der Elektrokultur ein noch ungeklärtes Problem bedeutet. Im Anschluß an mehrjährige frühere Untersuchungen über den Einfluß der stillen Entladung auf chemische Vorgänge, die mit biologischen Grundfragen in nahem Zusammenhange stehen,

[1]) Vgl. z. B. Lemström, Elektrokultur, Berlin 1902. — Wollny, Forsch. a. d. Gebiete der Agrikulturphysik **11**, 88, 1888. — Euler, Akad. d. Wissenschaften, Stockholm **1899**, 609. — Löwenherz, Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten **15**, 137.

versuchte ich einen Beitrag zu dem Problem der Elektrokultur dadurch zu liefern, daß ich die Einwirkung einer speziellen Form der elektrischen Energiezufuhr auf solche Reaktionen untersuchte, die für die biologischen Assimilations- und Dissimilationsprozesse von grundlegender Bedeutung sind. Wenn es auch bis jetzt noch nicht gelungen ist, den zweifellos vorhandenen Einfluß der elektrischen Energie in seiner Verwendbarkeit für die praktischen Fragen der Elektrokultur in eine brauchbare Form zu bringen, so möchte ich doch der Überzeugung Ausdruck geben, daß nur auf spezielle Reaktionen gerichtete Untersuchungen unter genau festgelegten physikalischen Bedingungen zur Klärung der Frage führen können. In diesem Sinne sollen die vorliegenden Arbeiten als Beiträge zu dem Problem der Elektrokultur aufgefaßt werden.

Wenn die Elektrokultur tatsächlich eine Maßnahme bedeutet, die das Gedeihen der Keime und das Wachsen der Pflanzen fördert, so handelt es sich nicht darum, durch neue Bedingungen einen von dem gewöhnlichen Wachstum abweichenden Effekt zu erreichen, sondern darum, günstige Naturbedingungen, die gelegentlich auftreten, in geregelter und gleichsam konzentrierter Form anzuwenden. Um daher dem Problem der Wirkung der elektrischen Energie auf die Pflanzen näher zu kommen, muß man zuerst wissen, welche elektrischen Verhältnisse die Pflanzen in dem Erdboden, in dem sie wurzeln, und der Luft, in der sie atmen, im allgemeinen umgeben, und die Frage aufwerfen, ob sie derart sind, daß sie einen Einfluß auf die Lebensreaktionen ausüben können.

Diese Frage ist zu bejahen. Es ist kein Zweifel, daß schon die durch elektrische Vorgänge in der Atmosphäre erzeugten Stoffe, wie Ozon, Wasserstoffperoxyd und Stickoxyde, auf die Reaktionen der Pflanzenwelt in irgendeiner Weise einwirken. Um so wichtiger erscheint es, die an der Erdoberfläche tätigen elektrischen Kräfte zu kennen.

Vergegenwärtigt man sich zunächst, unter welchen Bedingungen in bezug auf die Aufnahme elektrischer Energie sich die Pflanzen bzw. die Pflanzensamen befinden, so kann man sagen, das vegetabilische Leben spielt sich in der leitenden Erdoberfläche ab. Über ihr ist die Atmosphäre, ein Dielektrikum. Es können folgende elektrische Vorgänge herbeigeführt

werden. Entweder eine Elektrolyse innerhalb des Erdbodens, die eine gerichtete Ionenwanderung und an den Elektroden Ionenentladung herbeiführt oder durch Kataphorese das Verhältnis der kolloiden Substanzen des Erdbodens oder der Pflanzenteile verschiebt. Weiter kann in der die Pflanzen umgebenden Luftschicht ein Potentialgefälle herrschen, das durch die dielektrische Atmosphäre zum Erdboden oder zu den Pflanzenoberflächen den Ausgleich sucht. Für die praktische Form der Elektrokultur kommt nur diese zweite Möglichkeit in Betracht, die in der Landwirtschaft gewöhnlich in der Form realisiert wird, daß ein isolierter Metallrahmen oder ein isoliertes Metallgitter in bestimmter Höhe über dem Erdboden und parallel zu diesem ausgebreitet mit hochgespannter Elektrizität versehen wird, die dann durch kontinuierliche Entladung sich gegen die Erdoberfläche ausgleicht.

Eine elektrische Energieform, die dieser praktischen Anordnung nahekommt, ist die stille elektrische Entladung. mit deren chemischen Wirkungen ich mich schon seit einer längeren Reihe von Jahren beschäftige. Die Frage nach den durch den Ausgleich von Potentialdifferenzen durch ein Dielektrikum erzielbaren Reaktionen greift über das Problem der Elektrokultur weit hinaus; es ist sicher, daß die für die Entladung notwendigen Potentialdifferenzen auch ohne künstliche Einrichtung in der Natur vorhanden sind und, da sie vorhanden sind, nach dem Maß ihrer chemischen Wirksamkeit an den natürlichen Reaktionen teilnehmen. Ich muß deshalb mit wenigen Worten auf unsere Kenntnisse über die atmosphärische Elektrizität eingehen. Von Berthelot[1]) ist festgestellt worden, daß zwischen Luftschichten oder zwischen Luft und Blattoberflächen oder zwischen Luft und Erdboden Potentialdifferenzen auftreten, die pro Meter von 7 Volt bei trockenem Wetter bis 500 Volt bei feuchtem Wetter schwanken. Der Ausgleich solcher Spannungen findet allgemein in der Form dunkler Entladungen statt. In den letzten Jahren ist hauptsächlich von Nodon[2]) die Rolle, welche die Sonnenstrahlen bei der Erzeugung von Potentialniveauflächen spielen, untersucht worden. Ferner ist zu erwähnen, daß mit der Sonnenstrahlung außer den Wärme-

[1]) Compt. rend. 131, 772, 1900.
[2]) L'action électrique du soleil. Paris 1910.

und Lichtstrahlen auch ultraviolette Strahlen in Tätigkeit gesetzt werden, deren Bedeutung für die Ionisierung in Gasen bzw. für die Elektronenerzeugung bekannt ist.

Zu den Formen der kontinuierlichen elektrischen Entladungen, die an der Erdoberfläche eine Rolle spielen, gehört auch die Glimmentladung, die auftritt, wenn der elektrische Ausgleich zwischen höheren Spannungen sich vollzieht. Schließlich ist noch die disruptive Entladung des Blitzes zu erwähnen.

In der Tat sind also in der Natur stets ähnliche elektrische Kräfte wirksam, die man in der Elektrokultur gleichsam in konzentrierter Form teilweise zur Anwendung bringen will, und insofern ist in dem anfangs erwähnten Problem mehr enthalten als nur die Frage, welche die Elektrokultur praktisch zu verwerten sucht. Es handelt sich darum, festzustellen, welche Rolle die elektrischen Vorgänge bei den wichtigsten biologischen Reaktionen spielen.

Um zunächst eine allgemeine Stellung zu diesem Problem zu gewinnen, braucht man nur zu bedenken, daß, wie schon erwähnt, durch die im Dielektrikum sich ausgleichenden Potentialdifferenzen, wenn das Dielektrikum feuchte Luft ist, bestimmte Reaktionen regelmäßig kerbeigeführt werden, wie z. B. die Ozon-, Wasserstoffperoxyd- und Stickoxydbildung. Aus dieser Feststellung ergibt sich ohne weiteres die experimentelle Frage, ob diese Stoffe auf die pflanzlichen Vorgänge, wie Kohlensäure- und Stickstoffassimilation oder Oxydationsprozesse von Einfluß sind, ob sie die zahlreichen Enzymreaktionen fördern oder hemmen. Weiter aber wissen wir, daß die chemischen Reaktionen nicht allein auf den Gasraum beschränkt sind, sondern daß auch die Grenzfläche zwischen Erdboden und Luft Reaktionen herbeiführt, die direkt die im Erdboden befindlichen Stoffe betreffen. So konnte Berthelot[1]) nachweisen, daß eine Anzahl fester Körper und flüssiger Stoffe Stickstoff absorbieren. Tragen wir auch dem Auftreten ultravioletter Strahlen Rechnung, so wird die Anzahl der möglichen Reaktionen noch weit größer.

Auf Grund dieser Verhältnisse und Erfahrungen läßt sich ohne weiteres schließen, daß der elektrischen Energie bei den

---

[1]) Compt. rend. **126**, 616, 1898 u. a. a. O.

Lebensreaktionen eine große Bedeutung zukommt, daß die Erkenntnis ihrer Rolle aber nur durch eine große Reihe von Einzeluntersuchungen gefördert werden kann.

Die Anwendung der stillen Entladung ist aus physikalischen und chemischen Gründen für solche Untersuchungen besonders geeignet. Aus physikalischen Gründen, weil in ihr unter Ausschaltung höherer Temperaturen die elektrische Energie vereint mit der ultravioletten Strahlung auftritt, wie besonders von Warburg[1]) nachgewiesen worden ist; aus chemischen Gründen, weil durch die stille Entladung relativ starke chemische Wirkungen ausgeübt werden.

Um nun zu meinen eigenen Untersuchungen zu kommen, möchte ich von den bereits früher festgestellten und mitgeteilten, biologisch wichtigen Prozessen erwähnen: 1. die Assimilation der Kohlensäure über Formaldehyd bis zum Glykolaldehyd aus feuchter Kohlensäure[2]), 2. die Synthese von Fettsäuren, die sich an die Kohlensäureassimilation anschließt[3]), 3. die Synthese des Glykokolls aus Kohlensäure, Wasser und Ammoniak, über die Zwischenstufe des Formamids, eine Reaktion, die als erste Phase der Stickstoffassimilation auf dem Wege zum Eiweiß aufgefaßt werden kann[4]), 4. die Hydrolyse der Stärke[5]) und 5. die Desaminierung des Glykokolls[6]).

Betrachtet man diese Ergebnisse zusammen mit denjenigen Reaktionen, die in der Atmosphäre außerdem herbeigeführt werden können, wie Ozon-, Wasserstoffperoxyd- und Stickoxydbildung, so kann man die durch die Entladung erzielbaren Reaktionen in folgender Weise klassifizieren. Durch die Wirkung der stillen Entladung können:

a) direkte Synthesen oder Zerlegungen aus den Stoffen der Atmosphäre oder der leitenden Elektrode (Flüssigkeit oder Erdoberfläche) herbeigeführt werden;

b) Stoffe geschaffen werden, die hemmend oder beschleunigend, reduzierend, oxydierend oder auch substituierend auf andere biologische Vorgänge einwirken;

---

1) Annal. d. Physik [4] 13, 464, 1903.
2) Zeitschr. f. Elektrochem. 12, 282, 1906.
3) Diese Zeitschr. 20, 126, 1909.
4) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 46, 684, 1913.
5) Diese Zeitschr. 60, 286, 1914.
6) Ebenda.

c) an und für sich ablaufende Reaktionen direkt, d. h. ohne Katalysatoren beschleunigt oder gehemmt werden.

In Gemeinschaft mit A. Sato habe ich mich im letzten Jahre zunächst der Frage zugewandt, ob die für keimende Pflanzen wichtigen Enzymreaktionen durch den Einfluß der elektrischen Entladung in ihrem Ablauf modifiziert werden. Diese Aufgabe zerfällt in eine Reihe Unteraufgaben. Zunächst mußte, soweit es noch nicht geschen war, festgestellt werden, wie sich die Substrate unter dem Einfluß der Entladung verhalten, sodann mußte ermittelt werden, ob die Enzyme durch die Entladung verändert werden, und schließlich nach Feststellung dieser Verhältnisse entschieden werden, in welcher Weise die Entladung auf die enzymatische Veränderung des Substrates einwirkt, und zwar mußten alle diese Versuche sowohl bei Ausschluß der atmosphärischen Luft, um das Auftreten von Ozon, Wasserstoffperoxyd und Stickoxyden zu vermeiden, durchgeführt werden, als auch in Gegenwart von atmosphärischer Luft, um ihre Rolle festzustellen. Es liegt nahe, anzunehmen, daß diese Rolle im allgemeinen eine die Lebensvorgänge schädigende ist. Jedoch kann die Konzentration der Stoffe von größter Bedeutung sein. Man weiß aus biologischen Vorgängen, daß manche Substanzen, die noch in geringer Konzentration als Gifte wirken, also als Katalysatoren hemmen, in homöopathischer Verdünnung die gleichen Vorgänge beschleunigen. Ich erinnere an die Wirkungen des Arsens und Strychnins. Wie hier die Verhältnisse liegen, läßt sich nur experimentell entscheiden. In dieser ersten Mitteilung sind nur die unter Ausschluß von Luft durchgeführten Versuche enthalten.

Zu den wichtigsten enzymatischen Vorgängen der keimenden Pflanze gehören die diastatischen, tryptischen und lipolytischen Enzymreaktionen. Wir haben, da es uns zunächst auf die prinzipielle Klärung der Verhältnisse ankam, keine Pflanzenenzyme zu unserer Untersuchung gewählt, sondern tierische. Aus der trockenen Substanz von Schweinepankreas, die uns von der chemischen Fabrik Rhenania in Aachen in großer Menge und mit vorzüglicher Wirksamkeit zur Verfügung gestellt ist, haben wir hochwirksame Lösungen hergestellt, die wir in geeigneter Verdünnung zu unseren Versuchen benutzten. Es ist aber nach den bisherigen Erfahrungen nicht aus-

geschlossen, daß es durchaus nicht gleichgültig ist, welche Enzyme und Substrate angewandt werden. Es besteht die Möglichkeit, daß die pflanzlichen Enzyme sich unter dem Einfluß der Entladung anders verhalten als die bisher untersuchten tierischen Enzyme.

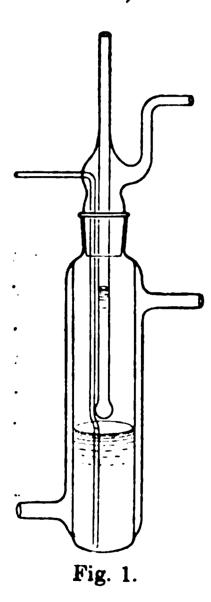
Noch ein allgemeiner Gesichtspunkt sei hier hervorgehoben. Die von der Entladung auf die in Lösung befindlichen Stoffe ausgehende Wirkung ist, wie nicht anders zu erwarten, eine Oberflächenwirkung. Die gesamte Flüssigkeit wirkt als eine Elektrode gegenüber der zweiten im Gasraum befindlichen Elektrode. Innerhalb des gasförmigen Mediums findet der Potentialabfall zur Flüssigkeitsoberfläche statt. Soweit also elektrische Vorgänge mitspielen, handelt es sich um Vorgänge in der Grenzschicht Gas-Flüssigkeit. Aber auch die durch Strahlen (ultraviolette) hervorgerufenen Wirkungen dürften infolge der starken Absorption nicht in die Tiefe der Lösungen dringen, so daß das Fortschreiten der Entladungsreaktionen in Lösungen lediglich auf die Diffusionsvorgänge in den letzteren zurückzuführen ist. Diese Auffassung ist die Folgerung aus der Beobachtung, daß eine dünne Schicht flüssigen Paraffins auf der Oberfläche der der Entladung ausgesetzten Flüssigkeit genügt, um die Lösung vor der Einwirkung zu schützen. Es findet nur eine Zersetzung des Paraffins an der Grenzfläche Paraffin-Gasraum statt.

Experimentelle Vorbemerkungen.

Der Elektrisator. Obgleich die der Entladung ausgesetzten Flüssigkeiten sich anscheinend nicht merklich erwärmten, so schien es doch bei der Notwendigkeit der Kontrollversuche und der starken Beeinflussung der Reaktionsgeschwindigkeiten bei enzymatischen Reaktionen durch geringe Temperaturdifferenzen notwendig, durch besondere Kühlvorrichtung für möglichste Temperaturkonstanz zu sorgen. Es wurde deshalb den Elektrisatoren folgende durch die Zeichnung veranschaulichte Form gegeben:

Das Glasgefäß (s. Fig. 1), das der Aufnahme der Versuchs- bzw. Kontrollösung dient und bei einer Höhe von 18 cm einen inneren Durchmesser von 4 cm besitzt, ist in seiner ganzen Länge von einem aufgeschmolzenen Kühler umgeben, durch

den während der Versuchsdauer Wasser strömt. Der Boden des Gefäßes, der vom Kühler frei bleibt, taucht gerade in die Oberfläche einer Salzlösung, in die die eine Leitung des Induktoriums geführt ist. Das Entladungsgefäß verjüngt sich oben etwas; der eingeschliffene, hohle Glaspfropfen trägt die zweite Elektrode, ein 20,5 cm langes Glasrohr, das am unteren Ende zu einer Kugel von 1 cm Durchmesser aufgeblasen ist. Die Dimensionen sind so gewählt, daß bei 50 ccm Versuchslösung die Kugel gerade 2 cm von der Flüssigkeitsoberfläche entfernt ist. Kugel und Glasrohr werden mit Salzlösung gefüllt. In sie taucht der zweite Draht des Induktoriums. Ferner trägt der Glaspfropfen das zum Anschluß an die Vakuumpumpe bestimmte Ansatzrohr und für die entsprechenden Versuche mit Gas- oder Luftdurchleitung[1]) ein an der Kugel vorbeiführendes zur Capillare ausgezogenes Glasrohr, dessen Länge mit den Versuchszwecken schwankt. Handelt es sich darum, im Entladungsraum irgendein Gas, dessen Einfluß auf die Reaktion festzustellen ist, gegenwärtig zu halten, so endet die Capillare oberhalb der Flüssigkeitsoberfläche. Die Regelung der Gaszufuhr wird dann durch eine besondere, mit Wasser gefüllte Waschflasche, die den Elektrisatoren vorgeschaltet ist, besorgt. Soll aber das Gas der Rührung dienen, um Suspensionen unlöslicher Stoffe, wie Fette in Wasser, herbeizuführen, so läßt man die Kapillare erst unmittelbar über dem Boden des Elektrisators enden. Versuchs- und Kontrollgefäß sind immer in genau übereinstimmender Weise eingerichtet, abgesehen von den bei letzteren fehlenden elektrischen Anschlüssen.


Fig. 1.

Die Erzeugung des Vakuums besorgte eine mit zwei Rückschlagventilen versehene größere Wasserstrahlpumpe, die die konstante Einstellung auf 20 mm Quecksilberdruck gewährleistete. Bei Gaszuführung durch die Capillaren konnten durch Quetschhähne der Gaseintritt und das Vakuum reguliert werden.

[1]) Für die Versuche ohne Gasdurchleitung kann das Kapillarrohr fehlen.

Versuchs- und Kontrollgefäß wurden stets an die gleiche gegabelte Vakuumleitung angelegt; auch die Gaszufuhr durch die Capillaren erfolgte aus einer gemeinsamen Leitung. Beide Gefäße waren etwa $1^1/_2$ m voneinander entfernt; durch isolierte Befestigung des Kontrollgefäßes auf einem zweiten Tisch wurde der Einfluß der Elektrizität von ihm ferngehalten. Das Kühlwasser durchströmte zunächst das Kontrollgefäß, dann das Versuchsgefäß. Bei umgekehrter Schaltung wurde das Kontrollgefäß durch den Wasserstrom merklich geladen. In der gewählten Anordnung ließ sich eine Fortleitung der Elektrizität auf das Kontrollgefäß nicht feststellen. Doch nahmen wir später für beide Gefäße zwei verschiedene Wasserhähne für die Kühlleitung; ein Unterschied zeigte sich gegenüber der eben erwähnten Schaltung nicht. In beiden Fällen ist ja eine leitende Wasserströmung zwischen beiden Gefäßen, die sich bei der gegebenen Laboratoriumsanlage der Wasserleitung auch nicht vermeiden ließ. Wir überzeugten uns jedoch, daß bei Aufstellung des Kontrollgefäßes in einem anderen Raum mit isolierter Kühlung die Resultate die gleichen blieben wie bei der geschilderten Anordnung. Ein merklicher Einfluß der durch die Kühlung veranlaßten Elektrizitätsleitung ist also nicht vorhanden.

Die chemischen Untersuchungsmethoden.

Es war von Anfang an klar, daß nur die empfindlichsten chemischen Arbeitsmethoden zur Klärung der Frage benutzt werden mußten. Die zahlreichen Erfahrungen des einen von uns über die chemische Wirkung der stillen Entladung wiesen auf die Notwendigkeit hin, mit recht geringfügigen quantitativen und qualitativen Beeinflussungen zu rechnen. Die Bedeutung der Befunde konnte und mußte sogar unabhängig von dem Größenmaß der beobachteten Wirkungen bleiben, da eine relativ kleine Versuchsanordnung über Vorgänge unterrichten sollte, die unter weit größeren Verhältnissen in der Natur oder auch in künstlichen Anlagen eine wichtige Rolle spielen können. In manchen Fällen, in denen die stoffliche Ausbeute eine bessere war, konnte das Untersuchungsverfahren vereinfacht werden. Immer wurden Versuchs- und Kontrollösungen in genau der gleichen Weise untersucht.

1. Untersuchung der diastatischen Wirkung.

Handelt es sich darum, die Hydrolyse von Stärkelösungen durch die Entladung bei Fehlen des Enzyms zu ermitteln, so kann die Jodreaktion zunächst nur darüber belehren, ob im Versuch die Hydrolyse bis zum völligen Verbrauch der Stärke durchgeführt ist. Sie sagt natürlich nichts aus über den Grad der Hydrolyse. Ihn lernt man nur durch die quantitative Zuckerbestimmung, die nach Bertrands Methode ausgeführt wurde, kennen. Polarimetrische Bestimmung ist zu ungenau und gestattet keine quantitative Auswertung.

Die Bertrandsche Bestimmung wurde in der Weise ausgeführt, daß ein aliquoter Anteil der entsprechend verdünnten Lösung mit einer abgemessenen Menge kolloidaler Eisenoxydlösung versetzt wurde unter Zusatz von einigen Kubikzentimetern gesättigter Natriumsulfatlösung. Magnesiumsalze sind zu vermeiden, weil das bei dem Kochen mit der alkalischen Kupferlösung ausfallende Magnesiumhydroxyd die Filtration des Kupferoxyduls sehr erschwert. Von dem wasserklaren Filtrat der Eisenoxydfällung kam ein bestimmter Anteil nach Bertrands Vorschrift zur weiteren Behandlung. Die Titration wurde mit $^{n}/_{20}$-Kaliumpermanganatlösung ausgeführt, die von Zeit zu Zeit auf ihren Kupferwert kontrolliert wurde. Meist entsprach 1 ccm der Lösung 3,16 mg Kupfer.

In Gegenwart von Diastase wurde in genau der gleichen Weise verfahren. Oft auch stellten wir, um eine Beurteilung für den Ausfall des Versuches zu gewinnen, die Osazonprobe an.

2. Untersuchung der tryptischen Wirkung.

Als Substrate dienten unseren Versuchen Seidenpepton, Casein und Fibrin. Nur die beiden ersteren wurden für sich auf ihr Verhalten der Entladung gegenüber geprüft. Die Unlöslichkeit des Fibrins macht den Versuch mit ihm überflüssig. Das Seidenpepton verwendeten wir sowohl in wässeriger als auch in Hinsicht auf den tryptischen Angriff in ganz schwach alkalischer Lösung. Casein wurde in neutraler oder schwach sodaalkalischer Caseinnatriumlösung benutzt.

Von dem reinsten Casein-Hammarsten gebrauchten 3 g 4,15 ccm $^{n}/_{2}$-NaOH zur Neutralisation. Die Lösungen wurden in Zwischenräumen von 2 bis 3 Tagen frisch hergestellt, sterili-

siert und jede Infektion nach Möglichkeit vermieden. Der Zusatz antiseptischer Mittel war durch den Zweck ausgeschlossen.

Um eine Einwirkung der Entladung auf die Substrate festzustellen, wurde in folgender Weise verfahren.

Bei dem Seidenpepton kann eine Hydrolyse zum Auftreten von Ammoniak und freien, nicht kolloidalen Aminosäuren führen. Die Bildung des ersteren ließ sich qualitativ durch Vergleich der Versuchs- und Kontrollösungen gegen Neßlers Reagens erkennen, quantitativ durch Destillation mit Magnesia. Bei den schwach alkalischen Lösungen bietet die quantitative Ammoniakbestimmung keine genauen Anhaltspunkte, weil in dem starken Vakuum zweifellos Spuren Ammoniak aus der Lösung entweichen. Das gilt natürlich ebenso für die alkalischen Caseinlösungen.

In den alkalifreien Peptonlösungen wurde weiter auf eine Veränderung des Gesamtsäuretiters geprüft. Ob eine Aminosäureabspaltung stattgefunden hat, ließ sich mittels der van Slykeschen und der Sörensenschen Methoden ermitteln. Beide wurden angewandt, und zwar sowohl auf die ursprünglichen, vorher gegen Phenolphthalein neutralisierten Lösungen, als auch nach der Entfernung der Kolloide durch kolloidales Eisenoxyd auf die peptonfreien Lösungen.

Bei der Ausführung der Sörensenschen Methode ist die Kohlensäure durch Auskochen der Lösungen vorher zu entfernen.

Die gleichen Proben wurden auch bei der Verwendung der Caseinlösungen benutzt. Doch kamen hier noch weitere hinzu, die der eine von uns (Löb) zur Untersuchung des Magensaftes für klinische Zwecke ausgearbeitet hat.

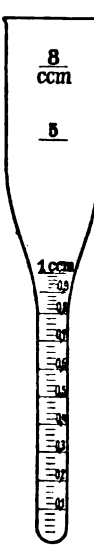


Fig. 2.

Das Casein läßt sich durch verdünnte Essigsäure leicht vollkommen ausfällen. Nimmt man diese Ausfällung in Zentrifugengläschen vor, deren stark verjüngter unterer Teil ca. 1 ccm, das in $^1/_{100}$ ccm geteilt ist (Fig. 2), faßt, so gelingt es, wenn man gleiche Teile der Versuchs- und Kontrollösung in genau gleichen Gläschen zu gleicher Zeit auf einer elektrischen Zentrifuge (3000 Umdrehungen pro Minute) 10 Minuten zentrifugiert, das

Casein als festen, bei weiterem Zentrifugieren nicht mehr veränderlichen Pfropfen in dem unteren Teil des Gläschens zu schleudern.

Die Volumina dieser Caseinniederschläge lassen sich scharf ablesen und geben unmittelbaren Vergleich der unveränderten Caseinmengen. Zur weiteren Sicherstellung der Resultate wird dann die über dem Niederschlag befindliche Flüssigkeit durch ein Filter abgegossen, der Niederschlag mit Wasser im Zentrifugengläschen verrührt und nochmals zentrifugiert. Das Wasser wird nun von dem Bodensatz durch das gleiche Filter abgegossen und das Zentrifugengläschen mehrmals ohne Aufrühren des Niederschlags mit Wasser gewaschen und letzteres durch das Filter mit den ersten Filtraten vereint. In den Filtraten sind nun alle löslichen Produkte aus dem Casein vereint; im Gläschen, bzw. auf dem Filter das unveränderte Casein. Mit diesem sowohl, wie mit den gesammelten und auf bestimmtes Volum gebrachten Filtraten läßt sich die Biuretreaktion in folgender Form quantitativ colorimetrisch anstellen.

Der Caseinniederschlag wird im Gläschen in 7,5 ccm 15 $^0/_0$ iger Natronlauge gelöst, die Lösung durch das vorher für das Waschwasser benutzte Filter in ein 100-ccm-Meßkölbchen filtriert, gründlich mit Wasser nachgewaschen, sodann 2,5 ccm einer Kupfersulfatlösung, die im Liter 138 g Salz enthält, hinzugefügt und bis zur Marke aufgefüllt. Nach sehr gründlichem Umschütteln wird nach einer Viertelstunde durch ein trocknes Filter filtriert. Bei genau gleicher Bearbeitung von Versuchs- und Kontrollösung erhält man so biuretfarbene Filtrate, die sich sogleich im Duboscqschen Colorimeter quantitativ vergleichen lassen und so eine Nachprüfung der Caseinmengenablesung geben. Bei der Geringfügigkeit der Wirkung ist es oft notwendig, durch verschiedene Methoden das Resultat zu kontrollieren. Eine weitere Kontrolle gibt dann die colorimetrische Ausmessung der Biuretreaktion der Filtrate. Die Methodik ist die gleiche, wie bei der Bearbeitung des Niederschlags. Auch wurden die gleichen Mengen Natronlauge und Kupfersulfatlösung angewandt und die Volumina der Filtrate auf 100 ccm gebracht. Es ist klar, daß die Intensitätswerte der Biuretreaktion in den Filtraten entgegengesetzt den der Caseinniederschläge sein müssen. Je mehr Casein unverändert

geblieben ist, desto weniger biuretgebende Stoffe sind gelöst und umgekehrt. So bietet diese Kontrolle ein weiteres Hilfsmittel zur Sicherstellung der Resultate.

Die gleichen Methoden, Prüfung auf Ammoniakabspaltung, auf Vermehrung der Aminosäuren nach Slyke und Sörensen, sowohl vor wie nach der Behandlung mit kolloidaler Eisenoxydlösung wurden auch zu den Versuchen über die Einwirkung der Entladung auf Substrat und Enzym benutzt. Ebenso kam für die Casein-Enzymversuche die colorimetrische Biuretauswertung und die Zentrifugiermethode in der geschilderten Weise zur Anwendung.

Bei den Fibrinversuchen, die nur in Gegenwart von Enzym ausgeführt wurden, suchten wir durch Bestimmung des Stickstoffs des löslich gewordenen Anteils Aufschluß zu erhalten, indem wir die Verbrennung des Filtrats nach Kjeldahl durchführten.

Da es sich bei unseren Untersuchungen um die Beeinflussung empfindlicher biologischer Vorgänge an hochmolekularen Substanzen handelt, so schien uns die chemische quantitative Bestimmung oft nicht ausreichend, um die Frage einer Wirkung in bezug auf die biologische Reaktionsfähigkeit konkludent zu beantworten. Es war mit der Möglichkeit zu rechnen, daß eine Veränderung in der Teilchen- oder Molekulargröße, die sich in der chemischen Analyse nicht ausspricht, die Angreifbarkeit gegenüber den Enzymen modifiziert. Um dieser Frage näher zu kommen, verfuhren wir so, daß wir die Substratlösungen des Versuchs und der Kontrolle, wenn Enzyme dabei waren nach kurzem Aufkochen der Flüssigkeiten und Filtration, in Serienversuchen der Einwirkung steigender Mengen von Enzymlösungen für bestimmte Zeiten aussetzten und die Mischung feststellten, die vollständige Verdauung als Grenzwert aufwies. Zeigten sich in Versuchs- und Kontrollflüssigkeiten hierbei regelmäßig wiederkehrende Unterschiede, so war der Schluß gerechtfertigt, daß durch die Entladung das Substrat eine Veränderung erfahren hat, die es der Enzymwirkung gegenüber mehr oder weniger angreifbar macht. Z. B. wurden nach beendigtem Versuch von der auf bestimmte Volumina aufgefüllten Caseinlösung des Versuchs und der Kontrolle je 2 ccm in eine Anzahl Reagensgläser gebracht und zu ihnen

steigende Mengen: 0,1 ccm, 0,2 ccm, 0,3 ccm usw. einer auf ihre Wirksamkeit geprüften Trypsinlösung unter Zusatz einer gleichen Menge 1 %iger Sodalösung (schwach alkalische Reaktion) hinzugefügt. Nach ein-, zwei- und mehrstündigem Verweilen im Brutschrank ließ sich durch einige Tropfen (für alle Proben die gleiche, vorher ausprobierte Anzahl) 1 %iger Essigsäure das unangegriffene Casein ausfällen. Das Reagensglas, bei dem gerade keine Ausfällung mehr erfolgte, enthielt die zur völligen Verdauung eben ausreichende Enzymmenge. War das Filtrat in dem geschilderten Sinne verändert, so waren die Mischungen für gerade vollständige Verdauung bei Versuchs- und Kontrollösung nicht die gleichen. Nur mehrfache Wiederholung dieser Proben mit stets gleichem Resultat wurde als Hinweis auf eine derartige Beeinflussung angesprochen.

Ein ähnliches Verfahren wandten wir auch bei den Stärkeversuchen an. Es wird bei ihrer Besprechung noch besonders erwähnt werden.

Bezüglich der elektrischen Einrichtung, die nur zur Ausführung kleinerer Versuche ausreicht, sei auf meine früheren Angaben verwiesen.

Die Herstellung der Versuchslösungen.

Da wir zunächst nur mit einem Material von sehr starker Enzymwirkung arbeiten wollten, so wählten wir, wie bereits erwähnt, die Gesamttrockensubstanz von Schweinepankreas, die uns von der Chemischen Fabrik Rhenania Aachen-Hamburg mit größter Liberalität in vorzüglicher Qualität und großen Mengen zur Verfügung gestellt wurde. Die frisch geschlachteten Organe werden nach dem Verfahren der Fabrik vollständig entblutet, gewaschen, dann unter Alkohol gebracht, um eine weitere Entwässerung vorzunehmen, der Alkohol wiederholt abgepreßt und erneuert und schließlich durch Fettlösungsmittel ein großer Teil der Fettsubstanzen entfernt. Alle Maßnahmen werden bei Zimmertemperatur durchgeführt; auch das schließliche Trocknen, nach dem die zerfallenen Organe durch Kugelmühlen zerkleinert und nötigenfalls auch gesiebt werden. Es resultiert ein feines lockres, schwach gelbes Pulver, das keine Blutreaktion mehr gibt, noch reichlich Peptone und Eiweiß, weniger Fett enthält und eine ungemein starke diasta-

tische, tryptische und lipolytische Wirksamkeit besitzt. Über das Maß dieser Wirkungen hat der Eine von uns (Löb[1]) vor einiger Zeit Daten mitgeteilt, die zeigen, daß man mit dieser Substanz für die vorliegenden Zwecke in ungemein großen Verdünnungen arbeiten muß.

Wir stellten deshalb zunächst eine Stammlösung der Enzyme dar, indem wir 5 g „Pankreatin“ mit 50 ccm Wasser 1 Stunde auf der Schüttelmaschine schüttelten, das trübe Gemisch sodann $^1/_4$ Stunde auf der elektrischen Zentrifuge abschleuderten, die obere dünne Fettschicht abhoben und die über dem Bodensatz befindliche Flüssigkeit filtrierten. Es resultierte so eine klare gelbe Lösung, die wir für die Versuche stark, oft um das tausendfache, verdünnten. Erst in dieser Abschwächung ließ sich die Reaktionsgeschwindigkeit der Enzymwirkungen messend verfolgen. Die Angabe „Enzymlösung 1:1000“ usw. bezieht sich also stets auf die Verdünnung des durch die Schüttelung erhaltenen Extraktes. Es ist, um ein Bild von dem Wirkungsgrad des Pankreatins zu erhalten, noch zu beachten, daß ein großer, vielleicht sogar der größere Teil der Enzyme nicht in Lösung geht, sondern an die unlöslichen Stoffe adsorbiert bleibt.

Die Enzymlösungen müssen oft frisch hergestellt werden, da ihr Titer sich schnell verändert und zwar zunächst verstärkt wird, wahrscheinlich durch Abbau hemmender Stoffe. Man kann durch Toluolzusatz die Enzymlösungen längere Zeit haltbar machen, doch wurde von diesem Hilfsmittel kein Gebrauch gemacht, da Spuren von Kohlenwasserstoffen und anderen Substanzen die Wirkung der Entladung nach unerwünschten Richtungen ablenken. Das trockne Pankreaspulver hält sich bei sorgfältiger Aufbewahrung (Schutz gegen Feuchtigkeit) jahrelang unverändert.

Experimenteller Teil.

I. Die Einwirkung der stillen Entladung auf Substrate der Enzymwirkung.

In einem experimentell noch unbekannten und schwierigen Gebiet ist es notwendig, die einzelnen Faktoren einer Aufgabe zunächst für sich zu behandeln und das komplizierte Problem

[1]) Diese Zeitschr. 46, 125, 1912.

in möglichst einfache und durchsichtige Unterprobleme aufzulösen. Bevor sich feststellen läßt, inwieweit Enzymreaktionen in ihrem Ablauf durch die stille elektrische Entladung beeinflußt werden, muß man wissen, wie sich unter gleichen Verhältnissen die Substrate ohne die Enzyme und — soweit es experimentell durchführbar ist — die Enzyme ohne die Substrate verhalten. Das Hauptaugenmerk der vorliegenden Untersuchung galt den diastatischen, tryptischen nnd lipolytischen Hydrolysen. So ergab sich die experimentelle Forderung und Disposition, zuvörderst das Verhalten der den Enzymwirkungen auszusetzenden Kohlenhydrate, Eiweißstoffe und Fettkörper kennen zu lernen.

Das Verhalten der Stärke.

Über die Hydrolyse der Stärke habe ich bereits in einer früheren Mitteilung[1]) einige merkwürdige Beobachtungen außer dem Eintritt der Hydrolyse veröffentlicht. So die Erscheinung, daß während der Entladung aus der klaren Stärkelösung sich unlösliche Flocken abscheiden, die, auch wenn die Hydrolyse in der Lösung vollständig war, die Fähigkeit behielten, sich mit Jodlösung tief blau zu färben. Diese Ausflockung tritt auch in dem gekühlten Elektrisator ein. Auch war schon betont worden, daß die Stärkelösung durch die Entladung nicht sauer wird, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen Ozon überhaupt nicht, Wasserstoffperoxyd nur in Spuren gebildet wird, die für die Hydrolyse nicht in Betracht kommen konnten. Die Richtigkeit dieser Auffassung ließ sich experimentell leicht beweisen. 100 ccm einer 1 $^0/_{00}$ igen Stärkelösung wurden mit 3 Tropfen 3 $^0/_0$ igem Wasserstoffperoxyd versetzt 3 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. In dieser Zeit war eine gleiche Stärkelösung durch die Entladung vollständig hydrolysiert, so daß die Jodreaktion ausblieb. Die entstehende Wasserstoffperoxydmenge war dabei bis zur Grenze des möglichen Nachweises minimal geblieben. In der Stärkelösung mit Wasserstoffperoxydzusatz, die der Entladung nicht ausgesetzt war, trat anscheinend überhaupt keine Hydrolyse ein: die Jodreaktion war tief blau, das Wasserstoffperoxyd in ungeschwächter Reaktion nachweisbar. Ferner läßt sich in einer 1 $^0/_{00}$ igen

[1]) Diese Zeitschr. **60**, 290, 1914.

Stärkelösung, durch die während der Entladung dauernd Wasserstoff geleitet wird, ebenso, wie bei Fehlen des Wasserstoffes die Hydrolyse durchführen.

Die eben erwähnte Bildung der Stärkeflocken war auf eine Art Polymerisationsvorgang, auf eine Bildung der unlöslichen Stärke, wie sie von Gruzewska[1]) an der Amylose der Kartoffelstärke beobachtet worden ist, zurückgeführt worden. Neuere Beobachtungen, nicht nur an der Stärke, scheinen darauf hinzuweisen, daß die Entladung „ausflockend" wirkt, wobei der Ausflockungsprozeß chemisch mit einem Polymerisationsprozeß identisch sein mag. Diese Ausflockung braucht aber nicht bis zum Sichtbarwerden vorzuschreiten, sondern sie macht sich durch ihr chemisches Verhalten schon früher bemerkbar. Es wurde fest- und durch wiederholte Versuche sichergestellt, daß Stärke, die der Entladung ausgesetzt, aber nicht hydrolysiert war (indem bei reichlicher Stärkekonzentration die Entladung nicht annähernd bis zur beendigten Hydrolyse durchgeführt wurde), daß dieser nicht hydrolysierte, aber der Entladung ausgesetzte Anteil der Stärke in der Lösung weit langsamer durch Diastase gespalten wird, als es vor der Entladung der Fall war. Es liegt nahe anzunehmen, daß wir es hier mit einem Einfluß der Teilchengröße auf die Reaktionsgeschwindigkeit im heterogenen System zu tun haben. Die durch die Vergrößerung der kolloiden Partikelchen der Stärke geschaffene Oberflächenverkleinerung setzt die Reaktionsgeschwindigkeit gegenüber dem Enzym herab. Die Stärke in diesem diastatisch trägeren Zustand würde danach eine Zwischenform zwischen der ursprünglichen löslichen Stärke und der sichtbar ausgeflockten bedeuten.

Als Diastaselösung wurde die Pankreatinlösung, deren Herstellung bereits geschildert wurde, verwandt. Die Wirksamkeit der Stammlösung ist eine so starke, daß die Verdünnungen derselben auf 1:1000 bis 1:2000 getrieben werden mußten. In welcher Weise die Entladung auf die Stärke einwirkt, zeigt die Beschreibung einzelner Versuche; bezüglich der analytischen Technik verweise ich auf die Vorbemerkungen.

---

[1]) Compt. rend. **152**, 785, 1911.

Hydrolyse der Stärke.

Kühlelektrisator. Vakuum 20 mm. Stromstärke in der Primärspule 1,3 Amp. Unterbrecher auf höchste Unterbrechungsgeschwindigkeit, Motor auf maximale Umdrehungszahl eingestellt. Abstand der Glaskugelelektroden von der Flüssigkeitsoberfläche 2—2,5 cm. Glimmentladung.

Nummer	Zusatz der Lösung	Dauer	Reduzierender Zucker in Kontrolle	im Versuche
			angegeben in mg Cu nach Bertrand	
1	50 ccm 1 % ige Lösung	3 Stunden	34,8	75,8
2	50 ccm 0,5 % ige Lösung	6 Stunden	15,8	53,7 Jodreaktion fehlt
3	50 ccm 0,5 % ige Lösung	6 Stunden	15,8	44,24 Jodreaktion braun-violett

Zahlreiche weitere Versuche mit gleichem Resultat sind durchgeführt.

Die der Entladung ausgesetzten Lösungen enthalten also, auch wenn die Hydrolyse nicht bis zu Ende durchgeführt wurde, immer beträchtlich mehr Zucker als die Kontrollösungen.

Um das Verhalten der elektrisch behandelten Stärkelösungen gegen Diastase festzustellen, wurde die Geschwindigkeit der Enzymwirkung gleichzeitig bei diesen und den stärkereicheren zugehörigen Kontrollösungen geprüft. Immer zeigte sich, daß die letzteren durch die Diastase trotz des Mehrgehaltes an Stärke viel schneller hydrolisiert wurden, als die Versuchslösungen.

Im einzelnen wurde in folgender Weise verfahren. Obgleich chemisch die Abwesenheit von Ozon festgestellt war, und die vielleicht vorhandenen Spuren von Wasserstoffperoxyd die Diastasewirkung, wie besondere Versuche lehrten, nicht beeinflußten, wurde doch zunächst eine Probe der Versuchslösung mit starker Diastaselösung (Stammlösung oder Verdünnung 1:10) stehen gelassen. Der alsbaldige Eintritt der Hydrolyse zeigte, daß keine Stoffe in der Lösung waren, welche die Diastase direkt unwirksam machen. Es handelt sich also nur um Hemmungen. Die chemische Untersuchung der neutral bleibenden Versuchslösungen gab keinen Anhaltspunkt dafür, daß die Ursache der Hemmung in einem andern Faktor, als

der Stärke selbst, zu suchen sei. Zum Vergleich der Diastasewirkungen wurden von den in gleichem Maße verdünnten Stärkelösungen je 5 ccm auf eine Reihe von Reagensgläsern verteilt und steigende Mengen sehr verdünnter Enzymlösung zugefügt. Sodann wurden die Mischungen in den Brutschrank gebracht und in bestimmten Zeitintervallen den Reagensgläsern je 1 ccm entnommen und mit Jod die Prüfung auf die Gegenwart von Stärke vorgenommen. Man erhielt so Grenzen des Überganges von Blau in Gelb, an denen sich der Fortschritt der Hydrolyse genau erkennen ließ. Das weitere lehren die Tabellen. Für diese Versuche wurden je 80 ccm 0,5 $^0/_0$ bis 1 $^0/_0$ ige Stärkelösung 3 Stunden der Entladung unterworfen, Versuchs- und Kontrollösungen auf gleiche Volumina gebracht, ein Teil zur Bestimmung des Hydrolysengrades, ein Teil für die folgenden Reihenversuche benutzt.

1 $^0/_0$ ige Stärkelösung, 3 Stunden Entladung.

Nummer	Pankreatinlösg. 1:1000. Zugesetzt zu je 5 ccm der Versuchs- und Kontrollösung	Im Brutschrank bei 38° C. Ausfall der Jodreaktion nach					
		1 Stunde		2 Stunden		24 Stunden	
		Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle
1	0,2 ccm	blau	blau	blau	violett	blau	gelb
2	0,4 „	„	„	„	gelb	„	„
3	0,6 „	„	„	„	„	„	„
4	0,8 „	„	„	„	„	„	„
5	1,0 „	„	„	„	„	„	„
6	1,2 „	„	braun	„	„	„	„
7	1,5 „	„	gelb	„	„	„	„
8	2,0 „	„	„	„	„	„	„
9	2,5 „	„	„	„	„	„	„
10	3,0 „	„	„	„	„	„	„

In dieser Versuchsreihe ist es auch in 24 Stunden mit 3 ccm Pankreatinlösung nicht gelungen, die Hydrolyse herbeizuführen. Erst 1 ccm einer 1:100 Pankreatinlösung brachte in 18 Stunden die Jodreaktion zum Schwinden. Bezeichnet man bei gleichbleibender Versuchsanordnung das erste Ausbleiben, gezählt nach der Versuchsnummer oder, was ihr entspricht, der wachsenden Pankreatinkonzentration, als Grenze des Hydrolysengrades, so liegt diese Grenze nach der obigen Tabelle nach einer Stunde für den Versuch über 10, für die Kontrolle bei 6, nach 2 Stunden für den Versuch über 10, für

die Kontrolle bei 1. So lassen sich kurz die Resultate noch einiger Versuchsreihen angeben.

0,5 %ige Stärkelösung. Versuchsdauer 3 Stunden. Pankreatinlösung 1 : 2000. Diastatische Wirkung:

Nach einer Stunde Grenze für Versuch über 12, für Kontrolle 7.

Pankreatinlösung 1 : 100:

Nach einer Stunde Grenze für Versuch 1, für Kontrolle 1.

Bei genügender Diastasenkonzentration tritt also auch in der Versuchslösung vollständige Hydrolyse ein. Der Wechsel in den Konzentrationsverhältnissen der Pankreatinlösungen erklärt sich aus ihrer wechselnden Wirksamkeit, deren Grad bei frischer Darstellung, sowie auch nach einigem Stehen immer aufs neue ermittelt werden muß, um die für unsere Versuche zweckmäßigen Konzentrationen festzustellen.

0,5 %ige Stärkelösung. Versuchsdauer 3 Stunden. Pankreatinlösung 1 : 5000. Diastatische Wirkung:

Nach einer Stunde Grenze für Versuch über 12, für Kontrolle über 12.

Nach 3 Stunden Grenze für Versuch über 12, für Kontrolle über 5.

Nach 24 Stunden Grenze für Versuch über 12, für Kontrolle über 1.

20 ccm Versuchslösung wurden durch 0,5 ccm unverdünnte Pankreatinlösung, ebenso wie die Kontrollösung in 20 Stunden vollständig hydrolysiert.

Das Verhalten des Seidenpeptons.

Das Seidenpepton erschien als Substrat für die tryptische Wirkung wegen seines Tyrosingehaltes geeignet, da sich hierauf vielleicht ein quantitatives Maß für die tryptische Hydrolyse gründen ließ. Trotz seiner großen Beständigkeit war es notwendig, zunächst festzustellen, wie sich die Peptonlösungen für sich gegenüber der Entladung verhalten, zumal nach der früheren Feststellung des einen von uns[1]) das selbst so beständige Glykokoll einer, wenn auch geringfügigen Spaltung unterliegt.

Die Seidenpeptonlösungen erwiesen sich gegenüber der Ent-

[1]) Löb, diese Zeitschr. **60**, 293, 1914.

ladung als sehr unempfindlich, auch wenn durch Zusatz von Soda für eine schwach alkalische Reaktion, wie sie für die tryptische Verdauung günstig ist, gesorgt wurde. Eine etwas stärkere Beeinflußung gelang lediglich durch Sauerstoffdurchleitung unter verdünntem Druck während des Versuchs, wobei es sich wahrscheinlich nur um Ozonwirkung handelt.

Über die prinzipielle analytische Methodik bei den Seidenpeptonlösungen ist das Erforderliche in den Vorbemerkungen gesagt worden. Es genügt deshalb die Zusammenstellung der Resultate. Es kamen in dem Kühlelektrisator je 50 ccm der Peptonlösung zur Verwendung; der Abstand der Glaskugelelektrode betrug 2 cm. Nach beendigtem Versuch wurden die Lösungen in 200-ccm-Kölbchen gespült, mit 50 ccm kolloidaler Eisenoxydlösung und etwas festem Natriumsulfat versetzt, bis zur Marke angefüllt und nach gründlichem Umschütteln filtriert. Von den Filtraten wurden je 50 ccm zur Bestimmung des gesamten, nicht an kolloide Substanzen gebundenen Stickstoffs, 50 ccm zur Ermittlung des Aminosäurestickstoffs nach der Methode von Sörensen, später auch nach der von van Slyke benutzt. Wenn weitere Einzelbestimmungen durchgeführt wurden, ist besonders darauf aufmerksam gemacht. Die Werte sind für die Kjeldahl-Bestimmungen in Kubikzentimeter $^1/_{10}$-H_2SO_4, für Sörensen in Kubikzentimeter $^1/_{10}$-NaOH angegeben.

Nummer	Konzentration der Peptonlösung	Versuchsdauer	Kjeldahl-Werte		Sörensen-Werte	
			Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle
1	3%	6 Std.	3,84 ccm	4,32 ccm	3,28 ccm	2,88 ccm
2	3%	6 "	4,26 "	3,80 "	3,40 "	3,40 "
3	3%	6 "	3,59 "	3,37 "	2,70 "	2,90 "
4	1%	6 "	5,84 "	5,53 "	2,63 "	2,75 "
5	1% mit 8 Tr. 1%iger Soda	6 "	4,58 "	4,76 "	2,47 "	2,83 "
6	3% mit Soda	6 "	4,75 "	5,83 " (?)	2,29 "	2,06 "
7	3% " "	6 "	4,38 "	4,88 "	2,20 "	2,10 "
8	1% " "	6 "	10 ccm nach Slyke: 1,15 ccm N	10 ccm nach Slyke: 1,05 ccm N	50 ccm auf NH_3 = 0,57 ccm $^1/_{10}$ H_2SO_4	50 ccm auf NH_3 = 0,53 ccm $^1/_{10}$ H_2SO_4
9	1% mit Soda	6 Std.	Lösungen auf 200 ccm ohne $Fe(OH)_3$ mit Wasser gebracht			
			10 ccm nach Slyke: 4,40 ccm N	10 ccm nach Slyke: 4,35 ccm N	3,94 ccm 50 ccm auf NH_3 = 1,54 ccm $^1/_{10}$ H_2SO_4	3,38 ccm 50 ccm auf NH_3 = 1,35 ccm $^1/_{10}$ H_2SO_4

Wurde während des Versuches Luft durchgeleitet, so wiesen die quantitativen Daten auch nur relativ unbedeutende Unterschiede auf.

1 %ige Peptonlösung nach 6 stündigem Versuch auf 200 ccm mit Wasser gebracht, ohne Behandlung mit kolloider Eisenlösung. Davon ergaben:

	Versuch	Kontrolle
5 ccm direckt auf Acidität titriert . .	0,52 ccm $^1/_{10}$ NaOH	0,46 ccm $^1/_{10}$ NaOH
10 ccm nach Sörensen	0,99 „ „	0,76 „ „
10 „ „ Slyke . .	4,30 „ N	4,15 „ N.

Während aber die Kontrollösung sich qualitativ frei von Ammoniak zeigte, gab die Versuchslösung mit Neßlers Reagens sofort deutliche Gelbfärbung; außerdem enthielt sie Ozon und Wasserstoffperoxyd.

Man muß also die Einwirkung der Entladung auf die Seidenpeptonlösungen als äußerst geringfügig bezeichnen.

Das Verhalten des Caseins und Fibrins.

Das aus reinstem Casein und Natronlauge nach den Angaben in den Vorbemerkungen hergestellte Caseinnatrium von neutraler Reaktion kam in 3 %iger wässeriger Lösung zur Verwendung. Bei den meist 6 stündigen Entladungsversuchen ließ sich mit und ohne Luftdurchleiten eine sichere chemische Einwirkung nicht feststellen. Zwar trübte sich die Versuchslösung durch geringfügige Koagulation des Caseins, jedoch gaben die Bestimmungen des durch Essigsäure nicht fällbaren Stickstoffanteils keine Unterschiede gegenüber den Kontrollösungen, die außerhalb der Fehlergrenze der analytischen Methodik lagen. Diese Widerstandsfähigkeit des Substrates ließ dasselbe als besonders geeignet für die spätere Untersuchung über die Beeinflussung der Enzymwirkung durch die Entladung erscheinen. Ebenso wird das in Wasser suspendierte Fibrin der ja nur die Oberfläche der Flüssigkeit treffenden Entladung entzogen. Für die Fibrinversuche kam frisches Pferdeblutfibrin, das durch tagelanges Auswaschen vollständig vom Blut befreit, rein weiß war und unter Glycerin aufbewahrt wurde, zur Verwendung. Von dem ausgewaschenen und zwischen Fließpapier oberflächlich getrockneten Präparat wurden gleiche Mengen abgewogen, die

für die Versuche und die Kontrollen in bestimmten Mengen Wasser verteilt wurden.

Das Verhalten des Tributyrins.

Als Substrat für die Untersuchung der Beeinflussung der Lipasenwirkung wählten wir reines Tributyrin. Dasselbe wurde im Kühlelektrisator in Wasser suspendiert und während der Entladung durch einen capillar eingeleiteten Wasserstoffstrom, der zunächst eine alkalische Bleilösung, dann zwei Waschflaschen mit Permanganatlösung und eine Waschflasche mit alkalischer Pyrrogalluslösung durchströmte, in feiner Verteilung gehalten. Bei einer Entfernung der Glaskugelelektrode von der Oberfläche der Flüssigkeit von 1 cm erstrahlt im Vakuum der Zwischenraum zwischen Oberfläche und Glaskugel in violettem Licht, das nur im Dunkeln zu sehen ist. Bei dem angewandten Elektrisator wurde 1 ccm Tributyrin in 75 ccm Wasser verteilt. Bereits nach 3stündiger Entladung zeigt die Versuchslösung im Gegensatz zur Kontrollösung deutlich den Geruch nach Buttersäure. Als die Glaskugelelektrode in einigen Versuchen durch eine Messingkugel ersetzt wurde, schieden sich Flocken ab, die in Alkohol unlöslich, in Natronlauge löslich waren und beim Kochen mit Schwefelsäure deutlich den Geruch nach Buttersäure zeigten. Die Natur der Flocken festzustellen, gelang nicht; doch ist es wahrscheinlich, daß sich ein schwerlösliches Metallsalz der Buttersäure gebildet hatte. Zur quantitativen Feststellung der Hydrolyse wurden Versuchs- und Kontrollösungen mit absolutem Alkohol auf 200 ccm gebracht, wobei das Tributyrin sich auflöst, und unter Verwendung von Phenolphtalein und Rosolsäure gegen $^{n}/_{100}$-Natronlauge filtriert. Je 100 ccm der Lösung, mit einem Tropfen $2^{0}/_{0}$igem alkoholischem Phenolphthalein versetzt, ergaben für den Versuch einen Verbrauch von 4,9 ccm, für die Kontrolle einen Verbrauch von 2,0 ccm. Unter Anwendung von je einem Tropfen $5^{0}/_{0}$iger alkoholischer Rosolsäure war der Verbrauch an $^{n}/_{100}$-Natronlauge 3,0 und 1,0 ccm.

Bei einem in gleicher Weise 18 Stunden lang durchgeführten Versuch waren die Erscheinungen genau die gleichen. Die mit Rosolsäure ermittelten Aciditätszahlen waren für den Versuch 9,5 ccm, für die Kontrolle 1,4 ccm $^{n}/_{100}$-Natronlauge. Bei diesem Versuche wurden je 100 ccm mit Calciumcarbonat bis zur neu-

tralen Reaktion geschüttelt. Nach gründlichem Auswaschen wurden die Filtrate der Dampfdestillation unterworfen, eingeengt und die klaren Lösungen in gewogenen Platinschalen eingetrocknet. Die Versuchslösung ergab 0,0358 g buttersaures Calcium, die Versuchslösung 0,0126 g. Zur weiteren Identifizierung wurden die beiden Salze mit Silbercarbonat in das charakteristische buttersaure Silber übergeführt. Die Tributyrinversuche sind stets mit demselben Resultat wiederholt worden. Es findet durch die Entladung eine teilweise Hydrolyse des Fettes statt, die zweifellos dem Umfange nach nur dadurch so geringfügig ist, daß das Tributyrin in Wasser unlöslich ist und nur vorübergehend durch den Gasstrom an die Flüssigkeitsoberfläche geführt wird.

II. Das Verhalten des Pankreatins.

Um eine Beeinflussung der enzymatischen Wirksamkeit durch die Entladung festzustellen, wurde in zweierlei Weise verfahren. Einmal wurden die Enzymlösungen der Entladung ausgesetzt und nachher vergleichsweise mit Enzymlösungen, die der Entladung nicht ausgesetzt waren, in ihrer Wirkung auf die verschiedenen Substrate geprüft. Weiter wurde untersucht, ob die Reaktion zwischen Enzym und Substrat unter dem Einfluß der Entladung direkt beeinflußbar ist.

Für die erste Art der Prüfung wurde eine Pankreatinstammlösung meist auf das 10fache verdünnt und je 50 ccm zum Versuch und zur Kontrolle angewendet. Es ist notwendig, die Versuche in vorher sterilisierten Gefäßen anzustellen, und auch sonst, da der Zusatz von antiseptisch wirkenden Mitteln ausgeschlossen ist, unter den Vorsichtsmaßregeln möglichster Sterilität zu arbeiten. So wurden die Enzymlösungen vor dem Versuch stets durch Berkeley-Filter oder Chamberlain-Kerzen filtriert, ein Verfahren, das bei der Prüfung der Lipase, die leicht zurückgehalten wird, nicht angängig ist. Da alle Versuche im Vakuum stattfanden, so ist eine Infektion der Lösung während der Versuche nicht beobachtet worden. Nachdem die Entladung mehrere Stunden eingewirkt hatte, wurden Versuch- und Kontrollösungen passend verdünnt und nunmehr durch parallele Serienversuche die Einwirkung auf die einzelnen Substrate quantitativ festgestellt.

a) **Prüfung gegen Stärke.** Zu dem Zweck kamen je 5 ccm einer 1 °/$_0$igen Stärkelösung in eine Reihe von Reagensgläsern. Dieselben wurden sodann mit steigenden Mengen der Pankreatinlösungen des Versuchs und der Kontrolle versetzt und in bestimmten Zeitintervallen die Grenze festgestellt, bei der bei 37° die Hydrolyse der Stärke vollständig geworden ist. Die Resultate einer Reihe von Versuchen sind die folgenden: Pankreatinlösung 1 : 100, 50 ccm, 3 Stunden der Entladung ausgesetzt, gleichzeitig mit Kontrolle. Nach beendigtem Versuch Pankreatinlösungen auf 1 : 1000 verdünnt. Für Versuch und Kontrolle je 12 Reagensgläser mit je 5 ccm 1 °/$_0$iger Stärke. Zusatz der beiden Pankreatinlösungen je 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0, 1,2, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0 ccm. Die Reagensgläser wurden mit steigendem Pankreatingehalt von 1 bis 12 numeriert, so daß die im folgenden angegebene Grenze immer das Reagensglas bedeutet, in dem die blaue Jodstärkereaktion gerade verschwunden war. Es ergab sich:

Nach 1 Stunde im Brutschrank:
Grenze für Versuch . . . über 12
" " Kontrolle 7

Nach 2 Stunden im Brutschrank:
Grenze für Versuch . . . über 12
" " Kontrolle 5

Nach 3 Stunden im Brutschrank:
Grenze für Versuch . . . über 12
" " Kontrolle 4

Nach 20 Stunden im Brutschrank:
Grenze für Versuch . . . über 12
" " Kontrolle 1

Bei einem zweiten in gleicher Weise ausgeführten Versuch wurden noch weitere Reagensgläser Nr. 13 bis 18 mit je 5 ccm Stärke versetzt und 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 ccm der Pankreatinlösung in der ursprünglichen Verdünnung 1 : 100 hinzugefügt, um einen Grenzwert auch für die Versuchslösungen mit Sicherheit zu erreichen. Die Resultate waren in diesem Fall, in dem die Pankreatinlösungen von vornherein schwächere diastatische Eigenschaften hatten, als die zuerst hergestellten, die folgenden:

Stunden im Brutschrank	Grenze für Versuch	Grenze für Kontrolle
1	18	12
2	16	11
3	16	10
20	14	5

Bei einem dritten Versuch in der gleichen Anordnung wie beim zweiten Versuch wurden folgende Daten gefunden:

Stunden im Brutschrank	Grenze für Versuch	Grenze für Kontrolle
1	17	10
2	15	7
3	15	6
20	11	5

Aus diesen Versuchen geht mit voller Sicherheit hervor, daß die diastatischen Eigenschaften durch die Entladung geschädigt werden. Daß nicht irgendwelche Oxydationsprodukte für diese Schädigung in Frage kommen, zeigen besondere Versuche, die im Vakuum unter Durchleiten von Wasserstoff ausgeführt wurden. Die Resultate blieben dieselben.

b) Prüfung gegen Casein. Zur Prüfung, ob die Einwirkung der Entladung auf die Pankreatinlösung ihr tryptisches Vermögen verändert, wurde als Substrat eine neutrale 1 $^0/_0$ige Caseinnatriumlösung gewählt. In einer Reihe von Reagensgläsern wurden je 2 ccm dieser Lösung mit steigenden Mengen der elektrisch behandelten Enzymlösungen und, in gleicher Weise, der Kontrollösung versetzt, und nach längerem Verweilen im Brutschrank durch Ansäuerung mit verdünnter Essigsäure die Grenzkonzentration festgestellt, bei der völlige Verdauung eingetreten war, der Zusatz von Essigsäure also keine Trübung mehr hervorrief. Die für den Versuch und die Kontrolle in der Verdünnung 1:10 angesetzte Pankreatinlösung wurde nach 3stündiger Einwirkung der Entladung auf das 10fache, also 1:100, verdünnt und von diesen Lösungen 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0 ccm zu je 2 ccm der Caseinnatriumlösung zugesetzt. Die einzelnen Versuche ergaben folgende Resultate:

Stunden im Brutschrank	Grenze für Versuch	Grenze für Kontrolle
1	über 5	über 5
2	„ 5	5
3	„ 5	4

Ein zweiter Versuch ergab folgende Daten:

Stunden im Brutschrank	Grenze für Versuch	Grenze für Kontrolle
1	über 5	über 5
2	5	4
20	alles verdaut	alles verdaut

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Pankreatinlösung durch eine Trypsinlösung ersetzt. Das Trypsin (Kahlbaum) war vollständig in Wasser löslich und gelangte wegen seiner starken Wirksamkeit in der Verdünnung 1 : 100 zur Anwendung. Nach 3 stündiger Einwirkung wurden die Lösungen auf 1 : 1000 verdünnt und in den oben angegebenen Abstufungen, deren Reihe aber bis zu 2 ccm Enzymlösungszusatz ergänzt wurde, zu je 2 ccm der Caseinlösung zugefügt, so daß 10 Abstufungen für den Verdauungsversuch zur Verfügung standen. Die Resultate sind die folgenden:

Nummer	Stunden im Brutschrank	Grenze für Versuch	Grenze für Kontrolle
1	1	über 10	über 10
	2	8	7
	3	7	6
2	1	10	9
	2	7	6
	3	5	4
3	1	über 10	über 10
6 Stunden	2	8	7
Entladung	3	7	6
4	1	10	9
desgl.	2	7	6
	3	5	4

Aus diesen Daten geht hervor, daß eine geringe Hemmung auch der tryptischen Wirkung durch die Entladung herbeigeführt wird. Es muß aber unentschieden bleiben, ob dieselbe auf einer Schädigung der Enzyme beruht. Es zeigte sich nämlich, daß in der Versuchslösung während der Entladung im Gegensatz zur Kontrollösung, die klar blieb, eine Flockenbildung stattfand. Diese Flocken erwiesen sich im Versuch gegenüber der Caseinnatriumlösung als recht verdauungskräftig. Es ist mithin möglich, daß durch die Entladung eine Koagulation von Eiweißsubstanzen stattfindet, daß diese ausfallenden

Flocken einen Teil der Enzyme adsorbieren, so daß die von den Flocken befreite Lösung, die in den vorstehenden Versuchen zur Verwendung kam, enzymärmer ist. Ein derartiger Vorgang könnte sich in der beobachteten Schwächung der tryptischen Wirkung der Versuchslösung äußern. Bei diesen Verdauungsversuchen erwies es sich als zweckmäßig, eine Infektion im Brutschrank durch Zusatz von Toluol zu verhindern. Bei einigen Versuchen wurde durch Zusatz einiger Tropfen 1 $^0/_0$iger Sodalösung für schwache Alkalescenz gesorgt, ohne daß die Resultate dadurch modifiziert wurden.

c) Prüfung gegen Fibrin. Die Unlöslichkeit des Fibrins erforderte ein etwas anderes Verfahren. Nach 3stündiger Einwirkung der Entladung auf eine Pankreatinlösung 1 : 10 wurde diese ebenso wie die Kontrollösung auf 1 : 100 verdünnt. Je 20 ccm der Lösungen wurden mit gleich großen Flocken frischen Fibrins (5 g) versetzt und bestimmte Zeiten im Brutschrank gehalten. Danach wurde die Mischung aufgekocht, mit verdünnter Essigsäure schwach angesäuert, klar filtriert unter sehr gründlichem Nachwaschen. Sodann wurde in den Filtraten der in Lösung gegangene Stickstoff mittels der Kjeldahlschen Methode direkt bestimmt. Nach 1stündigem Verweilen im Brutschrank kam in zwei verschiedenen Versuchen für die Versuchslösungen ein Verbrauch von 7,7 und 10,8 ccm $^n/_{10}$-Schwefelsäure, dem für die Kontrollösungen 12,0 und 14,15 ccm entsprachen. Ein dritter Versuch ergab nach 2stündiger Verdauung im Brutschrank für die Versuchslösung in Doppelbestimmung 25,80 und 26,00 ccm $^n/_{10}$-Schwefelsäure, für die Kontrollösung 27,60 und 27,90 ccm. Aus diesen Versuchen ist der Schluß zu ziehen, daß das tryptische Vermögen auch gegenüber Fibrin durch die Entladung eine geringe Hemmung erleidet.

d) Prüfung gegen Tributyrin. Um zu entscheiden, ob auch die Lipasenwirkung der Pankreatinlösung durch die Entladung beeinflußt wird, wurden 75 ccm einer Pankreatinlösung 1 : 50 3 Stunden der Entladung ausgesetzt. Nach dem Verdünnen der Versuchs- und Kontrollösung auf 150 ccm mit Wasser und Filtration dienten je 50 ccm der Prüfung auf Lipasenwirkung. Zu jeder der Lösungen kamen 5 ccm einer 2 $^0/_0$igen Tributyrinlösung in 50 $^0/_0$igem Alkohol, ferner je

2 Tropfen 5 $^0/_0$iger alkoholischer Rosolsäure. Mittels Natronlauge wurden beide Lösungen genau neutralisiert, sodann 24 Stunden im Brutschrank gehalten und die eingetretene Säuerung mit $^n/_{10}$-Natronlauge filtriert. Eine häufige Wiederholung der Versuche ergab übereinstimmend, daß auch die Lipasenwirkung durch die Entladung geschwächt wird. So verbrauchten in verschiedenen Versuchen die Versuchslösungen 1,0, 1,0, 0,9, 0,94 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge, denen für die Kontrolllösungen die Werte 1,94, 1,90, 1,37 und 1,40 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge entsprachen.

III. Die Beeinflussung der Enzymreaktionen durch die Entladung.

Nachdem durch die im Vorhergehenden geschilderten Versuche ein Einblick in das Verhalten einiger Substrate und Enzymlösungen für sich gewonnen war, konnte man nunmehr der Aufgabe näher treten, wie sich die Enzymreaktion selbst, d. h. die Einwirkung des Enzyms auf das Substrat unter dem Einfluß der elektrischen Entladung verhält. Die Technik war bei diesem Versuche die gleiche wie bei der Untersuchung der Substrate für sich. Nach bestimmter Einwirkungsdauer wurde in den Versuchs- und Kontrollösungen quantitativ die Veränderung der Substrate ermittelt. Es war nicht ohne weiteres vorauszusehen, wie das Resultat dieser Versuche ausfallen würde. Wenn auch die Enzymwirkung für sich durchgehends eine Hemmung zu erleiden scheint, so ist zu berücksichtigen, daß die Substrate selbst mehr oder weniger im Sinne der Enzymwirkung durch die Entladung direkt hydrolysiert werden können, so daß diese Wirkung der schädigenden Wirkung auf die Enzyme entgegengesetzt gerichtet ist und sie vielleicht kompensieren oder überkompensieren kann. Ferner dürfte die Tatsache der teilweisen Ausflockung der Enzyme durch die Entladung insoforn den gesamten hydrolytischen Prozeß begünstigen, als mit der Ausflockung eine Adsorption des Substrates und damit eine größere Oberflächenwirkung für die Reaktion zwischen Enzym und Substrat veranlaßt werden konnte.

a) Pankreatinlösung und Stärke. Die Versuche wurden in der Weise angesetzt, daß Mischungen von 20 ccm steriler 1 $^0/_0$iger Stärkelösung mit 5 ccm einer Pankreatinlösung 1 : 100

3 Stunden der Entladung ausgesetzt wurden. Dann wurden in der geschilderten Weise Versuchs- und Kontrollösungen unter Auffüllung auf 200 ccm mit kolloidaler Eisenoxydlösung von den kolloiden Substanzen befreit und je 50 ccm der Filtrate nach der Methode von Bertrand auf ihren Gehalt an reduzierenden Zuckern geprüft. Die angegebenen Zahlen geben direkt die für 50 ccm verbrauchten Kubikzentimeter der $^{n}/_{20}$-Kaliumpermanganatlösung wieder, die für die Endtitration benutzt wurde.

Nr.	Verbrauch an Kaliumpermanganat	
	Versuch	Kontrolle
1	5,85	7,98
	6,03	7,78
2	3,50	5,01
	3,60	5,30
3	9,2	11,40
	9,2	11,42

Die Verschiedenheit der einzelnen Versuchs- und Kontrollwerte trotz gleich langer Entladungszeiten erklärt sich daraus, daß die stets frisch hergestellten Pankreatinlösungen von vornherein verschiedene diastatische Wirksamkeit besaßen. Es geht aus den Resultaten hervor, daß die Enzymreaktion unter dem Einfluß der elektrischen Entladung beträchtlich langsamer verläuft als ohne diese, und daß auch die durch die Entladung herbeigeführte Hydrolyse der Stärke nicht ausreicht, um die Hemmung der enzymatischen Reaktion aufzuheben.

b) Pankreatin und Casein. Um bei dieser Kombination den eingetretenen Grad der Verdauung des Caseins festzustellen, mußte ein etwas anderer Weg eingeschlagen werden, als bisher zur Lösung dieser Aufgabe verfolgt wurde. Denn es gelang nicht, nach dem Ausfällen des noch unverdauten Eiweißes durch Essigsäure klare Filtrate zu erzielen, die für die Kjeldahl-Bestimmung sichere Werte versprachen. Eine andere Enteiweißungsmethode war gleichfalls nicht anwendbar, da mit der Möglichkeit gerechnet werden mußte, daß der Abbau bei einem noch kolloidalen Zwischenglied halt macht, das bei den auf Adsorption beruhenden Enteiweißungsmethoden mit niedergerissen werden konnte. Es wurde darum so verfahren, daß nach beendigter Einwirkung der Entladung (dasselbe geschah

mit der Kontrollösung) die Enzyme durch kurzes Aufkochen vernichtet wurden. Nach dem Abkühlen wurden dann die Lösungen in abgestufter Menge mit derselben frischen Trypsinlösung versetzt und nunmehr zugesehen, ob nach 2 stündiger Verdauung bei 37° Versuchs- und Kontrollösungen einen Unterschied für die Grenze der vollständigen Verdauung erkennen ließen.

Bei einigen Versuchen, die mit 10 ccm einer sehr wirksamen Trypsinlösung 1 : 1000 und 40 ccm einer 1 °/₀igen Caseinnatriumlösung unter Zusatz von 5 Tropfen 1 °/₀iger Sodalösung bei 3 stündiger Einwirkungsdauer angestellt wurden, kochten wir Versuchs- und Kontrollösung kurz auf, filtrierten und wuschen auf 100 ccm nach. Von den Filtraten wurden je 2 ccm in Reagensgläsern mit 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0, 1,5, 2,0 2,5 ccm einer frisch hergestellten Trypsinlösung 1 : 1000 versetzt und nach 1 stündigem Aufenthalt im Brutschrank die Grenze festgestellt, bei der auf Zusatz von Essigsäure keine Trübung erfolgte. Diese Grenze lag nach 1 Stunde für die Versuchslösung noch oberhalb des achten Reagensglases, für die Kontrollösung bei 7. Nach 6 Stunden lag die Grenze für die Versuchslösung bei 8, für die Kontrollösung bei 3. Aus diesem Versuch, der mit gleichem Resultat mehrfach wiederholt wurde und der auch mit den weniger genauen Versuchen qualitativ übereinstimmte, in denen nach direkter Ausfällung des Caseins der Stickstoffgehalt der Filtrate nach Kjeldahl ermittelt wurde, muß man schließen, daß, ebenso wie die Stärkehydrolyse, auch die tryptische Verdauung des Caseins durch die Entladung gehemmt wird.

Die in den experimentellen Vorbemerkungen geschilderte Zentrifugiermethode, sowie die colorimetrische Auswertung der Biuretreaktion wurde für die Casein-Pankreatin-Versuche mehrfach angewandt. Obgleich die mit diesen Methoden gewonnenen Resultate, die schon mitgeteilten Befunde nur bestätigen, so möge doch die Angabe eines Versuches erfolgen.

50 ccm einer 3 °/₀igen Caseinnatriumlösung wurden mit 10 ccm einer Pankreatinlösung 1 : 1000 unter Zusatz von 6 Tropfen 1 °/₀iger Sodalösung 6 Stunden der Einwirkung der stillen Entladung ausgesetzt. Von den auf 100 ccm aufgefüllten Filtraten der Versuchs- und Kontrollösung wurden je 10 ccm

in den geschilderten Zentrifugengläschen durch 10 Tropfen 1%iger Essigsäure angesäuert und zentrifugiert. Der Caseinniederschlag der Versuchslösung betrug 0,15 ccm, der der Kontrollösung 0,12 ccm, so daß der Angriff auf das Casein durch die Entladung deutlich geschwächt erscheint. Sodann wurden je 50 ccm der Filtrate mit je 7,5 ccm 15%iger Natronlauge und 2,5 ccm einer Kupfersulfatlösung, die 138 g krystalliertes Salz im Liter enthielt, versetzt, auf 100 ccm aufgefüllt und nach gründlichem Umschütteln filtriert. Die violettblaue Biuretreaktion in den Filtraten gelangte sodann im Duboscqueschen Colorimeter zur Vergleichung. Die gleiche Farbintensität verlangte für die Versuchslösung 70 mm, für die Kontrollösung 65 mm Schichthöhe, sodaß auch dieser mit dem gleichen Resultat mehrfach wiederholte Versuch zeigt, daß die Kontrolllösung an Biuret gebenden Stoffen durch die Verdauung schneller angereichert wird als die Versuchslösung. Des weiteren wurde auch der in den Zentrifugenröhrchen erhaltene Caseinniederschlag, nachdem er von der überstehenden Flüssigkeit befreit und nochmals mit 10 ccm Wasser unter Zusatz von 10 Tropfen 1%iger Essigsäure gewaschen und zentrifugiert war, nach Entfernung des Waschwassers in Natronlauge gelöst und in der eben geschilderten Weise unter Auffüllung auf 50 ccm für die colorimetrische Vergleichung der Biuretreaktion vorbereitet. Nunmehr zeigte sich die gleiche Farbintensität, wenn die Kontrollösung auf 70 mm eingestellt war, bei der Versuchslösung bei 64 mm, so daß letztere mehr Casein enthielt, was eine Bestätigung des durch das direkte Zentrifugieren erhaltenen Resultats bedeutet. Wenn auch die Hemmung der Caseinverdauung durch die Entladung nur eine geringe ist, so muß sie doch durch diese Versuche als sicher erwiesen gelten.

c) **Pankreatin und Fibrin.** Bei den ersten Versuchen über die Beeinflussung der Fibrinverdauung durch die Entladung zeigte sich das nach den bisherigen Erfahrungen überraschende Resultat, daß durch die Entladung eine Beschleunigung der Enzymreaktion herbeigeführt wird. Dasselbe wurde anfangs so gedeutet, daß durch die von der Entladung veranlaßte Koagulation vielleicht ein schnelleres Fixieren des Enzyms an das Substrat stattfindet. Weitere Versuche wiesen aber

darauf hin, daß die Erschütterung, die sich von dem auf dem gleichen Tische befindlichen Unterbrecher fortpflanzte, diese Erscheinung hervorrufen konnte. Es gelang nämlich durch erschütterungsfreie Aufhängung des Unterbrechers die Erscheinung umzukehren und eine Hemmung der Fibrinreaktion, wie sie bei der Caseinverdauung beobachtet war, herbeizuführen. Die quantitative Bestimmung wurde durch die Ermittlung des Stickstoffgehaltes nach Kjeldahl in den Filtraten ausgeführt. Wurde z. B. eine Pankreatinlösung 1:500 mit Fibrin unter Zusatz von 3 Tropfen 1%iger Sodalösung während 3 Stunden der Entladung unterworfen, so zeigten, als die Erschütterung durch den Unterbrecher nicht vermieden war, aliquote Teile der Filtrate von Versuchs- und Kontrollösungen folgende Stickstoffwerte, ausgedrückt in Kubikzentimeter $^n/_{10}$-Schwefelsäure.

Versuchslösung	Kontrollösung
25,76	22,35
26,57	23,38
10,74	9,64

Es ist noch zu erwähnen, daß vor dem Filtrieren der Verdauungslösungen die schwach alkalische Reaktion durch 30 Tropfen 1%iger Essigsäure in eine saure verwandelt wurde.

Bei Vermeidung der Erschütterung durch den Unterbrecher gelangten 20 ccm Trypsinlösung 1 : 100 unter Zusatz von 15 ccm Wasser und 15 Tropfen 1%iger Sodalösung nebst 5 g Fibrinflocken zur Anwendung. Nach 2stündiger Entladungszeit wurde mit 30 Tropfen 1%iger Essigsäure angesäuert, filtriert und die Filtrate auf 250 ccm gewaschen. In je 100 ccm wurde sodann der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. In gleicher Bedeutung wie oben ergaben sich folgende Zahlen:

Versuchslösung	Kontrollösung
30,14	31,16
27,99	30,91
17,90	21,75

Zur weiteren Bestätigung dieses Resultates wurde auch hier die colorimetrische Methode angewandt. Je 20 ccm der Filtrate mit 7,5 ccm 15%iger Natronlauge und 2,5 ccm Kupfersulfatlösung ergaben auf 100 ccm aufgefüllt und filtriert bei dem ersten Versuch für eine Schichthöhe von 80 mm der Versuchslösung bei 75 mm der Kontrollösung gleiche Farbintensität.

Für den zweiten Versuch waren die entsprechenden Werte 90 und 82, für einen dritten 90 und 77. Man muß also aus diesen Versuchen den Schluß ziehen, daß bei Ausschluß der Erschütterung der Versuchslösung das Fibrin sich wie das Casein verhält.

Zum weiteren Nachweis, daß in der Tat die erwähnte mechanische Ursache den Verlauf der Reaktion bestimmt, sind die zuletzt erwähnten Versuche in genau derselben Weise wiederholt worden, während der Unterbrecher sich mit dem Elektrisator auf dem gleichen Tische befand. Jetzt ergab die Stickstoffbestimmung für den Versuch 28,52 ccm $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure, für die Kontrolle 27,77 ccm. Im gleichen Sinne fiel die colorimetrische Bestimmung aus: für die Versuchslösung 75 mm, für die Kontrollösung 80 mm. Es braucht nicht besonders betont zu werden, daß bei allen diesen Versuchen die Kontrollösung erschütterungsfrei aufgestellt war. Wenn auch bei der Geringfügigkeit der Differenzen ein vollständig sicherer Schluß gewagt erscheint, so dürften doch die Resultate dieser wiederholten, aufs sorgfältigste durchgeführten Versuche mit großer Wahrscheinlichkeit für die gegebene Deutung der Unterschiede sprechen.

Zusammenfassung.

1. Wässerige Stärkelösungen werden unter dem Einfluß der stillen Entladung und der Glimmentladung bei Gegenwart und bei Ausschluß von Sauerstoff hydrolysiert. Dabei wird der noch nicht hydrolisierte Anteil der Stärke, vielleicht im Sinne einer Polymerisation, in anderer Weise verändert, so daß der der Entladung ausgesetzte, aber nicht hydrolysierte Anteil der Stärke gegen Diastase widerstandsfähiger ist als nicht mit Elektrizität behandelte Stärke.

2. Durch die elektrische Behandlung von Pankreatinlösungen werden die diastatischen Eigenschaften derselben stark gehemmt.

3. Die Reaktion zwischen Diastase und Stärke wird durch die elektrische Behandlung gehemmt.

4. Seidenpeptonlösungen werden nur in ganz geringem Maße durch die Entladung hydrolysiert, wobei etwas freies Ammoniak entsteht. Die Menge der Aminosäuren und der nichtkolloidalen Stickstoffsubstanzen wird nicht in nachweisbarem Umfang ver-

mehrt. Auch Casein und Fibrin sind gegenüber der Entladung widerstandsfähig.

5. Die tryptischen Eigenschaften von Pankreatinlösungen werden durch die Entladung gehemmt.

6. Ebenso erleiden die Reaktionen des Enzyms mit Casein und Fibrin geringe Hemmung.

7. Tributyrin wird unter der Einwirkung der stillen Entladung hydrolysiert.

8. Die Lipase des Pankreatins wird durch die Entladung geschwächt.

Das Verhalten des Rohrzuckers bei der stillen Entladung.

Von

Walther Löb.

(Aus der biochemischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses, Berlin.)

(Eingegangen am 8. Dezember 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Über die Einwirkung der stillen Entladung auf Rohrzuckerlösung liegen bisher noch keine Mitteilungen vor. Eine Inversion des Rohrzuckers durch ultraviolette Strahlen haben Bierry, Henri und Ranc[1]), sowie Euler und Ohlsen[2]) beobachtet. Meinen Versuchen diente die schon mehrfach beschriebene[3]) elektrische Apparatur mit Rotax-Unterbrecher und Induktorium. Der Elektrisator bestand aus einem Glasgefäß in der Form einer Gaswaschflasche. Er hat eine Höhe von 18 cm und einen inneren Durchmesser von 4 cm und ist in seiner ganzen Länge von einem aufgeschmolzenen Kühler umgeben, durch den während des Versuchs Wasser strömt. Der Boden des Gefäßes, der vom Kühler freibleibt, taucht gerade in die Oberfläche einer Salzlösung, in die die eine Leitung des Induktoriums geführt ist. Das Entladungsgefäß verjüngt sich oben etwas. Der eingeschliffene hohle Glaspfropfen trägt die zweite Elektrode, ein 20,5 cm langes Glasrohr, das am unteren Ende zu einer Kugel von 1 cm aufgeblasen ist. Kugel und Glasrohr werden mit Salzlösung gefüllt. In sie taucht der zweite Draht des Induktoriums. Die Dimensionen sind so gewählt, daß bei 50 ccm Versuchslösung die Kugel gerade 2 cm von der

---

[1]) Compt. rend. l'Acad. des sciennes **152**, 1629, 1911.

[2]) Journ. d. Chim. phys. **9**, 416, 1911. Vgl. auch Neuberg, diese Zeitschr. **13**, 309, 1908; **39**, 158, 1912 über die Umwandlung des Rohrzuckers durch Sonnenlicht.

[3]) Diese Zeitschr. **46**, 123, 1912.

Flüssigkeitsoberfläche entfernt ist. Ferner trägt der Glaspfropfen das zum Anschluß an die Vakuumpumpe bestimmte Ansatzrohr (Fig.).

Um die Möglichkeit einer sekundären Spaltung des Rohrzuckers durch Wasserstoffperoxyd oder Ozon auszuschließen, wurde in einem durch die Wasserstrahlluftpumpe hergestellten Vakuum von 20 mm Quecksilber gearbeitet. Das Vakuum, das stets eine Viertelstunde vor Beginn des Versuches hergestellt worden ist, sorgte genügend dafür, daß der Gasraum des Elektrisators luftfrei und nur mit Wasserdampf gefüllt blieb. Im übrigen ist der Zusatz einer verdünnten Wasserstoffperoxydlösung, deren Konzentration weit über die bei der Entladung trotz des Vakuums einige Male beobachteten Spuren Wasserstoffperoxyd hinaus ging, ohne jeden Einfluß, wie besondere Versuche zeigten.

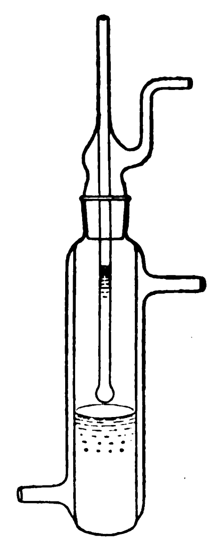


Fig. 1.

Der Grad der Hydrolyse wurde durch die quantitative Bestimmung des reduzierenden Zuckers nach der Bertrandschen Methode in der Versuchslösung und einer Kontrollösung, die in einem gleichen Gefäß unter denselben Bedingungen des Drucks und der Temperatur dieselbe Zeit gehalten wurde, ermittelt. Die Stromverhältnisse während des Versuches waren so gewählt, daß die Intensität in der Primärspule des Induktoriums 1,3 Ampere betrug. Der Rotax-Unterbrecher war auf die höchste Unterbrechungsgeschwindigkeit, der Motor auf maximale Umdrehungszahl eingestellt. Die Versuchsdauer betrug 12 Stunden. Nach beendigtem Versuch wurden Versuchs- und Kontrollösungen, die je 50 ccm 2,5 % ige Rohrzuckerlösung enthielten, in Meßkölbchen auf je 200 ccm gebracht. Die Reaktion blieb in allen Fällen neutral. Die Resultate zweier Versuche sind die folgenden:

Nummer	Reduzierender Zucker		
	vor dem Versuch	in Versuchslösung	in Kontrolle
1	48,2 mg	110 mg, 104 mg	53 mg, 50,6 mg
2	57,2 „	302,4 mg	68 mg

Diese beiden Versuche stelle ich deshalb nebeneinander, weil sie den großen, auch schon früher beobachteten Einfluß des Elektrodenabstands von der Flüssigkeitsoberfläche zeigen. Bei dem ersten Versuch betrug dieser Abstand infolge einer Reparatur 2,2 cm, während im zweiten Versuch die normale Entfernung von 2 cm wieder hergestellt war. Keine der Lösungen gab die Reaktion auf Wasserstoffperoxyd. Die Kontrollösungen reduzierten eine Silberlösung nur spurenweise, während bei den Versuchslösungen Spiegelbildung eintrat. Bei einem 30 Stunden lang durchgeführten Versuch ließ sich eine geringe Acidität (0,35 ccm $^{1}/_{10}$ Natronlauge) feststellen. Die entstandene Säure schien nicht flüchtig zu sein. Ihre Menge ist so gering, daß sie für die erzielte Inversion, besonders bei der niedrigen Temperatur, nicht in Betracht kommt.

Während der Entladung zieht sich ein nur im Dunkeln gut sichtbares, breites Glimmlicht violetter Färbung von der Glaskugelelektrode zur Flüssigkeitsoberfläche. Es tritt bei einem Druck von ca. 35 mm Quecksilber am schönsten auf. Wird der Druck zu groß, so erfolgt Funkenentladung, die natürlich während des Versuches ausgeschlossen bleiben muß. Der Rohrzucker wird also ebenso, wie es für die Stärke[1]) früher gezeigt worden ist, durch die Entladung hydrolysiert.

---

[1]) Diese Zeitschr. **46**, 121, 1912; **60**, 286, 1914.

Zur Kenntnis der Katalase der niederen Tiere.

Von

Rudolf Zieger.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 25. November 1914.)

Einleitung.

Trotz zahlreicher und eingehender Untersuchungen ist es erst 1901 Loew gelungen, einwandfrei nachzuweisen, daß die Fähigkeit der Organismen, Wasserstoffsuperoxyd zu spalten, einem speziellen Enzym zukommt, das er Katalase nannte. Hier auf die seit dieser Zeit sehr reichlich einsetzende Literatur weiter einzugehen erübrigt sich, da bereits sehr gute zusammenfassende Werke vorhanden sind[1]).

Trotz dieser zahlreichen Untersuchungeu ist die biologische Bedeutung der Katalase noch sehr unsicher. Wir wissen, daß die Katalase ein allgemein verbreitetes Ferment ist, das H_2O_2 spaltet, wobei molekularer Sauerstoff (O_2) entsteht; welche Faktoren aber den verschiedenen Katalasegehalt der Tiere und Pflanzen bedingen, darüber ist etwas Sicheres nicht bekannt.

Die letzten Versuche, die biologische Bedeutung der Katalase zu erklären, haben Steche und Waentig[2]) gemacht. Die

---

[1]) Ich weise besonders zwecks kurzer Orientierung auf die Arbeiten von Oppenheimer, „Die Fermente und ihre Wirkungen" II. Teil, und von Battelli und Stern, „Die Katalase" (Ergebnisse der Physiol. 10, 1910) hin, die auch ausführliche Literaturverzeichnisse bringen. Ich führe nur die Arbeiten an, die in dem Literaturverzeichnis von Battelli und Stern nicht vorhanden sind.

[2]) Waentig und Steche, Über die fermentative Hydroperoxydzersetzung. I. Mitteil. Zeitschr. f. physiol. Chem. 72, Heft 3 u. 4, 1911; II. Mitteil. ebenda 76, Heft 2 u. 3, 1912; III. Mitteil. ebenda 79, Heft 4, 1912; IV. Mitteil. ebenda 83, Heft 4, 1913. — Steche und Waentig, Untersuchungen über die biologische Bedeutung und Kinetik der Katalase. Zoologica 67, 1912.

Notwendigkeit, die Angaben früherer Autoren über die Kinetik dieses Enzyms nachzuprüfen, führte sie zur Aufstellung einer befriedigenden Theorie über die Kinetik der Katalase. Da sich bei ihren Arbeiten eine Menge neuer, für die physiologische Bedeutung der Katalase wichtiger Gesichtspunkte ergaben, betraute mich Herr Dr. med. et phil. Otto Steche mit der Aufgabe, an der Hand eines möglichst großen Versuchsmaterials die Angaben der früheren Autoren nachzuprüfen und zu versuchen, ob es nicht gelingen möchte, Beziehungen zwischen dem Katalasegehalt und den Lebensvorgängen der Organismen aufzufinden.

Es sei mir noch an dieser Stelle gestattet, Herrn Geheimen Rat Prof. Dr. Chun für die Überlassung des Themas und sein Wohlwollen, das er mir jederzeit entgegenbrachte, meinen ergebensten Dank auszusprechen. Großen Dank schulde ich vor allen Dingen Herrn Privatdozent Dr. Otto Steche, von dem, wie erwähnt, die Anregung zu dieser Arbeit ausging, und Herrn Privatdozent Dr. P. Waentig, die mich immer in äußerst liebenswürdiger Weise mit Rat und Tat unterstützten.

I. Kapitel.
Materialgewinnung und Methodik.

Für meine Versuche verwendete ich fast ausschließlich die wirbellosen Tiere. Der Grund dazu war ein doppelter. Erstens waren die niederen Tiere auf die Katalase hin verhältnismäßig wenig untersucht, und zweitens konnten bei ihnen Fehler in bezug auf die Feststellung der Katalasemengen in den Organen leichter vermieden werden. Während bei den Wirbeltieren durch die hohen Katalasewerte des Blutes in den damit durchtränkten Organen Ungenauigkeiten bedingt sind, kommen sie bei den Wirbellosen infolge des gewöhnlich wesentlich geringeren Katalasegehaltes der Lymphe weniger in Betracht.

Das Material zu meinen Untersuchungen wurde zum größten Teil auf Exkursionen gesammelt, zum Teil auch gekauft und gezüchtet. Im letzteren Falle handelt es sich besonders um die Raupen der Lepidopteren, wie Nymphaliden, Sphingiden, Bombyciden usw., über deren Alter man orientiert sein mußte. Die marinen Tiere stammen teils aus Helgoland, teils aus Rovigno. Großen Dank bin ich, das Material betreffend, Herrn

Reichert, stellvertretendem Vorsitzenden des entomologischen Vereins „Fauna“ zu Leipzig, schuldig, der mir freigiebigst größere Materialmengen zu meinen Untersuchungen überließ.

a) Darstellung der Fermentlösungen.

Zur Herstellung aktiver Fermentlösungen habe ich im Anschluß an Steche und Waentig folgende Methode verwendet. Die ganzen Tiere und ihre Organe — letztere mußten natürlich möglichst rein von anderen Geweben und nicht unter Wasser präpariert werden — wurden genau gewogen und mit einer entsprechenden Menge von chloroformhaltigem, kohlensäurefreiem Wasser verdünnt, nachdem sie vorher mit gewaschenem und geglühtem Quarzsande zu einem feinen, homogenen Brei verrieben worden waren.

Chloroformwasser hat sich als sehr vorteilhaftes Konservierungsmittel bewiesen, eine Schwächung der Aktivität der Katalase durch Chloroform konnte trotz gegenteiliger Befunde von Hoffmann und Spiegelberg nicht bemerkt werden.

Da nach Angaben von Steche und Waentig schon die im destillierten Wasser enthaltene geringe Menge Kohlensäure schädigend auf die Katalase einwirkt, wurde, wie schon oben erwähnt, immer mit CO_2-freiem Wasser gearbeitet. Das gewöhnliche destillierte Wasser wurde, um es CO_2-frei zu machen, ca. 1 Stunde lang gekocht. Um neue CO_2-Adsorption zu verhüten, wurde vor die betreffenden Kochflaschen ein U-Rohr mit Natronkalk vorgeschaltet.

Die Verdünnung der einzelnen Extrakte schwankt je nach der Aktivität der untersuchten Objekte. Durch qualitative Proben kann man nach einiger Übung gut bestimmen, welche Verdünnung man zu wählen hat. Nach ca. $^1/_2$ stündigem Stehen wurden die Extrakte abfiltriert und sofort untersucht (vgl. III. Kapitel).

b) Versuchsanordnung bei den quantitativen Messungen.

Auch die Versuchsanordnung bei den kinetischen Messungen wurde eng nach den Angaben von Steche und Waentig ausgeführt. Die quantitativen Messungen geschahen durch Titration des Wasserstoffsuperoxyds mit Kaliumpermanganat in saurer Lösung. Zu diesem Zweck wurde eine bestimmte Anzahl Kubik-

zentimeter des Filtrats mit kohlensäurefreiem, destilliertem Wasser auf 250 ccm verdünnt und dazu gewöhnlich 1 ccm Wasserstoffsuperoxydlösung gegeben. Als Ausgangsmaterial für die H_2O_2-Lösung wurde das Mercksche Perhydrol benutzt, im Verhältnis 1 : 16 mit destilliertem Wasser verdünnt und davon 1 ccm auf 250 ccm Fermentlösung gebracht, so daß die H_2O_2-Konzentration nach der Mischung ca. $^n/_{400}$ war. Ausgeführt wurden die Versuche im Vakuum und unter ständigem Schütteln des Reaktionsgemisches mit der Hand. In bestimmten Intervallen wurden aus dem Gemisch Proben entnommen von je 30 ccm und in Kölbchen mit verdünnter Schwefelsäure eingelassen. Es wurde stets eine Reihe von 5 bis 6 Bestimmungen ausgeführt. Die zur Ausführung der Titration benutzte Schwefelsäure diente gleichzeitig dazu, die Reaktion zum Stillstand zu bringen. Die nicht zersetzte Menge Wasserstoffsuperoxyd wurde durch Titration mit einer $^n/_{100}$-Kaliumpermanganatlösung bestimmt. Die Berechnung der Konstanten erfolgte nach der die Abweichung im Reaktionsverlauf deutlicher zeigenden Formel für die Reaktion 1. Ordnung:

$$0{,}4343\,K = \frac{1}{t_2 - t_1} \cdot \log \frac{c_1}{c_2},$$

wobei t_1 und t_2 zwei aufeinanderfolgende Zeitpunkte der Probeentnahmen, c_1 und c_2 die ihnen entsprechenden Titrationswerte bedeuten. Als Beispiel für die so angestellten Versuche dient Tabelle I.

Tabelle I.

Beispiel für den Reaktionsverlauf der H_2O_2-Zersetzung durch Katalase.

26. VI. 1912.
Hydrophylus piceus, Imag.
Gew. 4,082 g; mit 102,05 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).
Filtrat: Trübe, gelblich, neutral.
2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2.
Geschüttelt 11^h 19′. Temp. 18°.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	11,73	2489	7778
3′ 30″	10,46	2394	
8′ 30″	7,94	2261	
14′ 30″	5,81	2103	
21′ 30″	4,14		

25. XI. 1912.
Dyticus marginalis, Imag.
Gew. 2,390 g; mit 59,75 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).
Filtrat: Trübe, gelblich, neutral.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2.
Geschüttelt 2^h 47′. Temp. 18°.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	13,45	2118	13298
3′ 30″	12,20	2051	
7′ 30″	10,10	1750	
10′ 30″	8,95	1848	
14′ 30″	7,95		

Am Kopfe der Tabelle befinden sich immer die Angaben über das Datum, über die Art des untersuchten Materials, für

des Gewicht, für die Eigenschaften des Filtrats, für die angewandte Verdünnung und für die Zeit. Von den drei Kolumnen enthält die erste die Zeit, gerechnet von dem Moment der Zugabe der Fermentlösung zu der H_2O_2-Lösung an bis zu dem Zeitpunkte, bei dem der Inhalt der Pipette in die H_2SO_4-haltigen Kölbchen zu fließen begann; die zweite die Anzahl der Kubikzentimeter der $KMnO_4$-Lösung, die die an den betreffenden Zeitpunkten entnommenen Proben verbrauchten; die dritte die nach obiger Formel berechneten K-Werte, mit 10^4 multipliziert. Um diese Werte vergleichen zu können, wurden sie alle auf eine Verdünnung von 1 : 1000 berechnet.

Die Messungen wurden im Wasserbade bei 18° ausgeführt. Diese Temperatur wurde gewählt, da nach Steche und Waentig die Konstanz der K-Werte um 18° bedeutend besser ist als bei 0° und höheren Temperaturen, und weil gerade um 18° eine relativ große Unempfindlichkeit gegenüber einer Änderung der H- resp. OH-Ionenkonzentration sich bemerkbar macht.

Die Filtrate wurden stets zu Beginn der Untersuchungen auf ihre Reaktion geprüft. Saure Extrakte, wie die von Camponotus, und alkalische (Murex) wurden neutralisiert. Doch muß man dabei äußerst vorsichtig zu Werke gehen, da schon sehr geringe Änderungen in der Reaktion großen Einfluß auf die Aktivität der Katalase haben. Steche und Waentig fanden speziell an Blut-, Leber- und Fettkatalase, daß bei 0° Neutralisation bis zum Farbenumschlag des Phenolphthaleins stets eine Aktivitätszunahme, höherer Alkaligehalt stets eine Abnahme, und Säurezusatz in schon sehr viel geringeren Mengen eine starke Schwächung der Fermentaktivität hervorruft.

Näheres über die Bedeutung des Schüttelns, den Einfluß des Alters, und vor allen Dingen über die Unvollständigkeit der Extraktion soll erst im kinetischen Teile gegeben werden.

Anfänglich wurden die Untersuchungen nur an Insekten ausgeführt. Als dann aber die Versuche auch auf Würmer, Schnecken, Echinodermen usw. ausgedehnt wurden, zeigte es sich, daß es nötig war, das Trockengewicht der betreffenden Organe und Tiere festzustellen, um Fehler, die durch den verschiedenen Wassergehalt, besonders bei Land- und Wassertieren, bedingt waren, auszuschalten. Es wurden zu diesem Zwecke

Tabelle II.

Katalasegehalt ganzer Tiere.

Name	1:1000	Auf Trockengewicht
Coelenterata:		
Actinia equina . . . Min.	702	3944
Actinia equina . . . Max.	3343	13412
Actinoloba dianthus . . .	1016	5921
Hydra viridis	3155	—
Echinodermata:		
Strongylocentrotus-Darm Min.	232025	1041000
Strongylocentrotus-Darm Max.	1093188	5382511
Asterias rubens-Darm Min.	132250	470810
Asterias rubens-Darm Max.	216400	717982
Cucumaria planci-Darm Min.	13562	138040
Cucumaria planci-Darm Max.	45288	206606
Vermes:		
Planaria polychroa	41720	205525
Ascaris megaloc . . Min.	756	5246
Ascaris megaloc . . Max.	3944	25677
Hirudo medic. . . . Min.	1506	14580
Hirudo medic. . . . Max.	3321	24574
Spirographis Spall.	6234	32209
Lumbricus terr. . . Min.	36644	177420
Lumbricus terr. . . Max.	113719	443868
Crustaceen:		
Daphnia magna	—	42762
Cyclops	10300	34540
Asellus aquaticus	310	1619
Oniscus murarius	885	2727
Gammarus pulex	588	—
Potamobius astac., Leber	2565	10663
Pagurus Prideauxii, "	1288	5966
Carcinus maenas, "	1825	7585
Myriapoda:		
Julus unilineatus	6122	14452
Lithobius forficatus	53962	172622
Insecta: Apterygota:		
Lepisma saccharina L. . .	21925	—
Archiptera:		
Libellula depressa Larv. L.	6500	—
Aeschna grandis Larv. L. .	7373	36741
Sympetrum sanguin. L. . .	7513	—
Orthoptera:		
Periplaneta or., Durchschnitt	1731	5360
Forficula auricul., "	27050	121029
Dixippus morosus, "	62538	—
Locusta viridissima . . .	22269	—
Decticus verrucivorus . .	27437	—
Platycleis brachyptera . .	12100	—
Stenobothrus dorsatus . .	19300	—
Oedipoda mineata	57960	1511
Liogryllus campestris . .	27732	—
Neuroptera:		
Myrmeleon formic., Larv.	49365	132130
Panorpa communis, Imag.	9713	—
Chrysopa perla, Imag. . .	7387	—
Lepidoptera:		
Hyponomeuta evonymella, Imag.	27925	—
Zygaena trifolii, Imag. . .	8666	25115
Rhynchota:		
Notonecta glauca	1851	7400
Nepa cinerea	3983	17468
Pyrrhocoris apterus, Larv.	714	—
Syromastes marginalis . .	391	—
Arachnoidea:		
Tegeneria domestica . . .	39850	—
Epeira diadema	42325	—
Mollusca: Lamellibranchier:		
Mytilus edulis	3014	10659
Anodonta	5616	30599
Gastropoden:		
Nassa reticulata	9209	20685
Murex brandaris . . Min.	531	1698
Murex brandaris . . Max.	4837	14603
Tritonium nodiferum . .	626	2243
Planorbis corn.	2356	9801
Limnaea stag. Min. . . .	972	5580
Limnaea stag. Max. . . .	8194	44973
Limnaea stag. Durchschn.	2497	13404
Paludina vivipara	1869	12610
Limax agrest., mittl. Tiere	57713	238200
Helix pomatia Min. . . .	5575	31601
Helix pomatia Max. . . .	16983	76381
Helix pomatia Durchschn.	10108	45675
Helix hortensis	38500	148800
Arion empiricorum, alte Tiere	34863	243970

die ganzen Tiere und deren Organe mittels eines Wiegemessers auf einem Wiegebrette fein zerkleinert, gut durchmischt und in zwei Hälften geteilt. Die eine Portion wurde im Trockenschrank bei 100° zur Trockengewichtsbestimmung angesetzt, die andere auf ihren Katalasegehalt hin untersucht. Die so gewählte Versuchsanordnung hat sich ganz gut bewährt. Es ergab sich, daß die auf das Trockengewicht berechneten *K*-Werte fast immer eine bessere Übereinstimmung zeigten als die nur auf eine Verdünnung von 1 : 1000 bezogenen. Leider war es nicht immer möglich, das Trockengewicht zu bestimmen, da oft die dazu nötige größere Materialmenge nicht zu beschaffen war.

Außer den Protozoen sind von den niederen Organismen ganze Tiere und deren Organe aus fast allen Gruppen untersucht worden. Es konnten selbstverständlich nur größere Arten und von diesen nur solche, die leichter zu beschaffen waren, zur Untersuchung gelangen. Besonderer Wert wurde darauf gelegt, die Tiere während der verschiedensten Perioden und Entwicklungsstadien zu untersuchen.

In Tabelle II sind nun die Werte für die ganzen Tiere, nach Tierkreisen geordnet, aufgenommen; ausnahmsweise sind nur bei den Echinodermen der Darm und bei den Decapoden die Leber angeführt worden, da hier ganze Tiere nicht untersucht werden konnten. Es sind dabei immer die auf eine Verdünnung von 1 : 1000 berechneten Konstanten und die auf das Trockengewicht bezogenen, soweit dies möglich war, angegeben worden. Nach jeweiligen Umständen sind auch Maximal-, Minimal- und Durchschnittswerte vermerkt worden. Was den Katalasegehalt der Gewebe und ganzer Zyklen anbelangt, weise ich auf die betreffenden Tabellen hin.

II. Kapitel.
Biologischer Teil.

a) Einfluß der Lebensweise auf den Katalasegehalt der ganzen Tiere (vgl. Tabellen XXVIII bis XLVI).

Wie schon erwähnt, zeichnet sich die Katalase durch ihre ubiquitäre Verbreitung aus. Ihrem allgemeinen Vorkommen gemäß sollte man erwarten, daß sie eine wichtige Rolle bei den Lebensvorgängen spielt. Die relative Katalasemenge in

den verschiedenen Arten ist nun, wie schon alle früheren Untersuchungen zeigen, sehr wechselnd, dagegen für die einzelnen Individuen derselben Spezies bei gleichen Perioden ziemlich konstant. Gewisse individuelle Unterschiede treten selbstverständlich immer auf.

Viele Forscher nehmen nun an, daß die Katalase mit der Intensität der Atmung in Zusammenhang zu bringen sei. Für die Pflanzen, speziell für die Kartoffel, glaubt Applemann[1]) gefunden zu haben, daß die katalytische Kraft mit der Respirationstätigkeit in einem bestimmten Verhältnisse stehe, da beide unter gleichen Bedingungen abnehmen. Zaleski und Rosenberg[2]) zeigen aber, daß sich bei den Pflanzen kein direkter Zusammenhang zwischen der Atmungsenergie beobachten läßt.

Für den tierischen Organismus nehmen besonders Jolles und Lesser einen Zusammenhang zwischen der Katalase und den Oxydationsprozessen an. Jolles weist auf einen Unterschied zwischen Wasser- und Landtieren hin. Lesser sucht an der Hand von mehreren Tabellen zu zeigen, daß mit absteigendem Sauerstoffverbrauch ein Sinken der Katalasemenge parallel geht. Er macht aber schon darauf aufmerksam, daß beträchtliche Ausnahmen existieren, daß die Vögel mit ihrer großen Sauerstoffaufnahme völlig aus dieser Reihe herausfallen, und daß der Regenwurm einen beträchtlich höheren Gehalt als der Maikäfer zeigt, obwohl dieser etwa das zehnfache an Sauerstoff aufnimmt. Und so schreibt er dem Sauerstoffbedarf Einfluß auf den Katalasegehalt zu, hält ihn aber nicht für den einzigen Faktor, der die Katalaseproduktion beherrscht. Daneben solle in Betracht kommen, welche Stoffe, ob Eiweißkörper, Kohlenhydrate oder Fette der Oxydation unterliegen. Als zweiten wichtigen Faktor führt er dann an, daß die Katalase durch zahlreiche andere Fermente, die mit den biochemischen Oxydationen in Verbindung stehen, wie z. B. durch die Peroxydase, gewissermaßen funktionell ersetzt werden könne, daß also kein prinzipieller Unterschied zwischen Peroxydasen und der Katalase bestehen soll. Demgegenüber muß aber betont werden, daß für eine oxydierende Wirkung der Katalase selbst nicht die geringsten experimentellen Anhaltspunkte zu finden sind.

[1]) Applemann, Bot. Gaz, **1910**, 182; **1911**, 306.
[2]) Zaleski und Rosenberg, diese Zeitschr. **33**, 1911.

Ich habe nun versucht, die Angaben Lessers über den Zusammenhang zwischen Katalase und Sauerstoffverbrauch weiter zu prüfen. Leider ist dies nur bis zu einem ganz geringen Grade möglich, da über den Sauerstoffbedarf der Tiere in der Literatur nur recht spärliche Angaben existieren. In der folgenden Tabelle III habe ich diejenigen Organismen, über deren Sauerstoffverbrauch Angaben gefunden werden konnten, zwecks leichterer Übersicht nach Tierkreisen geordnet, zusammengestellt, wobei für Tiere, deren Katalasezahl für den ganzen Körper nicht ermittelt werden konnte, wie bei den Echinodermen und Decapoden, der Katalasegehalt des jeweilig höchsten Organs angegeben werden soll. Um nun einen größeren Überblick über die Respirationsverhältnisse zu gewinnen, soll für diejenigen Organismen, deren Kohlensäureproduktion nur bekannt ist, diese an Stelle des Sauerstoffverbrauchs angeführt werden[1]).

Tabelle III.

Organismen		Gewebeart	1:1000	Auf Trockengewicht	Sauerstoffverbrauch pro kg Tier u. Stunde in ccm	Ausgeschiedene CO_2 pro kg Tier u. Stunde in g
Asterias rubens-Darm:	Min.	Darm	132 250	470 810	32,0 (Fürth)[2])	—
	Max.	"	216 400	717 982		
Ascaris megalocephala:	Min.	Ganzes Tier	756	5 246	Anaerobier	—
	Max.	" "	3 944	25 677		
Hirudo medicin. . .	Min.	" "	1 506	14 580	22,98 (Fürth)	—
	Max.	" "	3 321	24 574		
Lumbricus terrestr. .	Min.	" "	36 644	177 420	71,0	0,108 (Regnault)[3])
	Max.	" "	113 719	443 868		
Gammarus pulex.		" "	588	—	132,0 (Fürth)	—
Potamobius astac.		Leber	2 563	10 663	38,0 (Fürth)	—
Melolontha vulgaris . . .		Engerlinge	2 400	12 840	—	0,987 (Pott)
Rhizotrogus solstitialis . .		Imag.	37 865	103 371	671,9 (Maikäfer) (Lesser)	—
Mytilus edulis		Ganzes Tier	3 014	10 659	12,2 (Fürth)	—
Paludina vivipara		" "	1 421	9 100	—	0,278 (Pott)[4])
Planorbis corneus		" "	2 356	9 801	—	0,117 (Pott)
Limnaea stagnalis .	Min.	" "	1 576	10 161	—	0,138 (Pott)
	Max.	" "	8 194	44 973	—	
Helix pomatia . . .	Min.	" "	5 575	31 601	—	0,120 (Pott)
	Max.	" "	16 983	76 381	—	

[1]) Hermann, Lehrb. d. Physiol. **1905**, 532 u. 553.
[2]) Fürth, Lehrb. d. vergl. Physiologie.
[3]) Regnault u. Reiset, Ann. de Chimie, 3. Ser., **26**, 483 bis 490, 1849.
[4]) Pott, Die landwirtschaftl. Versuchsstationen **18**, 1875.

Während nun verschiedene Punkte, wie die Unterschiede im Katalasegehalt bei den Wasser- und Landschnecken und besonders das Verhalten der Anaerobier, die so außerordentlich wenig aktiv sind, darauf hinweisen, daß ein Zusammenhang zwischen dem Katalasegehalt und der Respiration besteht, läßt sich bei einem weiter durchgeführten Vergleiche keine direkte Parallelität zwischen dem Gasaustausch und dem Katalasereichtum konstatieren. Zu den Ausnahmen, die schon Lesser feststellen konnte, gesellen sich noch eine Reihe anderer. Vor allen Dingen fallen die Echinodermen auf, die, obwohl sie nur sehr wenig Sauerstoff aufnehmen, so außerordentlich katalasereich sind. Ebensowenig läßt sich ein allgemeiner Unterschied zwischen Wasser- und Landtieren konstatieren. Unter den Würmern z. B. reichen die im Wasser lebenden Planarien vollkommen an den Katalasegehalt von Lumbricus heran. Wohl zeigen einige spezifische Wasserinsekten, wie z. B. die Libellenlarven, sehr geringe katalytische Kraft, aber auch auf dem Lande lebende, wie Periplaneta orientalis, Maikäferlarven, Leptura rubra Imag., Coccinellenlarven usw., haben durchaus keine höheren Konstanten. Gerade Periplaneta, deren CO_2-Abgabe nach Bütschli[1]) relativ zu ihrem Körpergewicht größer ist als diejenige des Menschen, zeigt so auffallend niedrige Werte.

Und auch gegen das Argument, daß die anaerobisch lebenden Organismen so wenig katalytisch wirksam sind, lassen sich Einwände machen, da es viele Aerobier gibt, wie Asseln, Pyrrhocoris apterus, Periplaneta usw., die noch viel weniger Katalase als z. B. Ascaris enthalten. Ein direkter Zusammenhang des Katalasereichtums mit der Intensität der Atmung läßt sich also nicht konstatieren.

Aber auch andere Faktoren, wie die Lokomotionsweise und die Art der aufgenommenen Nahrung, lassen keinen eindeutigen Einfluß auf den Katalasegehalt erkennen.

In Tabelle IV sind einige charakteristische Beispiele dafür zusammengestellt. Immerhin lag doch die Vermutung nahe, daß die Lokomotionsweise mit regulierend auf den Fermentgehalt einwirken konnte, da das Blut fliegender Formen, wie der Vögel und die fliegenden Imagines der Lepidopteren, so

---

[1]) Bütschli, Arch. f. Anat. **1874**, 348.

Tabelle IV.

Zum Vergleich des Katalasegehaltes mit der Lokomotionsweise und Nahrungsaufnahme.

Tierkreis	Schlamm-, Erde-, resp. Detritusfresser				Pflanzenfresser				Fleischfresser (Räuber)			
	Name	Lokomotionsweise	1 : 1000	Auf Trockengewicht	Name	Lokomotionsweise	1 : 1000	Auf Trockengewicht	Name	Lokomotionsweise	1 : 1000	Auf Trockengewicht
Coelenterata	—	—	—	—	—	—	—	—	Actinia equina .	festsitz.	3 343	13 412
	—	—	—	—	—	—	—	—	Hydra viridis .	„	3 155	—
Echinodermata	Strongylocentrotus Min.	träge	232 025	1 041 000	—	—	—	—	Asterias rubens Min.	träge	132 250	470 810
	Max.	—	1 093 188	5 382 511	—	—	—	—	Max.	—	216 400	717 982
	Cucumaria planci Min.	träge	13 562	138 040	—	—	—	—	—	—	—	—
	Max.	—	45 288	206 606	—	—	—	—	—	—	—	—
Vermes	Lumbricus terr. Min.	träge	36 644	177 420	—	—	—	—	Planaria polychroa	träge	41 720	205 525
	Max.	—	113 719	443 868	—	—	—	—				
Arthropoda	Cyclops	schnell	10 300	34 540	—	—	—	—	Potamobius astacus, Leber (frißt auch Pflanzen)	—	2 563	10 663
	Julius unil. . .	träge	6 122	14 452	—	—	—	—	Lithobius forfic.	schnell	53 962	172 622
	—	—	—	—	Dixippus moros.	träge	62 886	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	Stenobothrus dorsat. . . .	schnell	19 300	—	Locusta viridiss.	schnell	22 269	—
	—	—	—	—	Chrysomela fast. Min.	träge	28 805	89 207	Aeschna gr., Larv.	—	7 373	36 741
	Geotrupes . . .	—	51 694	—	Max.	—	91 050	281 840	Carabus nemor. Min.	schnell	13 544	49 413
	—	—	—	—	Coccinella sept.				Max.	—	50 160	137 610
	—	—	—	—	Imag.	—	1 989	2 627	—	—	—	—
Mollusca	Mytilus ed. . .	träge	3 014	10 659	—	—	—	—	—	—	—	—
	Anodonta . . .	„	5 616	30 599	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	Wasserschnecken (Durchschnitt)	träge	1 576	10 101	—	—	—	—
	—	—	—	—	Landschnecken (Durchschnitt)	„	38 500	148 800	—	—	—	—

außerordentlich wenig aktiv sind. Der Flug stellt ja bekanntlich sehr hohe Anforderungen an den Organismus, und es war nicht ausgeschlossen, daß die diesen höheren Anforderungen parallel gehenden lebhafteren Oxydationsvorgänge Einfluß auf die Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Fähigkeit der Lebewesen haben konnten. Ein weiter gehender Vergleich aber lehrt, daß sich kein durchgehender Unterschied zwischen trägen und schnell beweglichen Organismen konstatieren läßt. Wie Tabelle IV zeigt, existieren in dieser Hinsicht genau solche Unregelmäßigkeiten, wie wir sie schon bei der Annahme eines Zusammenhangs der Katalase mit der Intensität der Respiration finden konnten. Wohl sind einige träge Tiergruppen, wie wir es im Gegensatz zu den fliegenden Tieren erwarten müssen, außerordentlich aktiv. Die Echinodermen, die Planarien, Lumbricus terrestris, Dixippus morosus, auch die Landschnecken enthalten bei ihrer trägen Lebensweise bedeutende Mengen von Katalase. Es existieren aber auch einige träge Organismen, wie Mytilus edulis und die festsitzenden Aktinien und Hydren, die recht wenig katalytisch wirksam sind. Andererseits enthalten auch schnell bewegliche Tiere, wie Daphnia, Cyclops, doch einen beträchtlichen Grad von Katalase. Einen auffälligen Unterschied in bezug auf die Lokomotionsweise zeigt der träge Julus unilineatus und der flinke Lithobius forficatus. Ersterer ist sehr katalasearm, letzterer dagegen sehr aktiv. Es muß aber dabei hervorgehoben werden, daß sie auch ganz verschiedene Kost genießen, und daß dadurch auch der Unterschied bedingt sein kann. Julus z. B. ist ein Moderfresser, Lithobius dagegen ein gefährlicher Räuber.

Vergleichen wir nun die Organismen auf die Art der aufgenommenen Nahrung hin, so erweckt es anfangs den Anschein, als ob besonders die Schlamm- und Erdefresser hoch katalytisch wirksam wären. Strongylocentrotus und Lumbricus enthalten als schlamm- und erdefressende Organismen außerordentlich hohe Mengen von Katalase. Aber durchaus nicht alle Tiere, die eine derartige Kost genießen, sind so aktiv. Mytilus edulis, Anodonta z. B. sind durch einen geringen Fermentgehalt ausgezeichnet. Auch sehr gefräßige Räuber, wie Asterias rubens, Lithobius, die Carabiden sind sehr katalasereich. Aber auch hier existieren Ausnahmen, die Aeschna-Larven z. B. geben sehr

niedrige Konstanten. Daß auch nicht etwa ein Unterschied zwischen Pflanzenfressern und den carnivoren Tieren besteht, zeigen besonders unter den Orthopteren die Saltatorier, die eine gute Übereinstimmung erkennen lassen, obwohl die einen (Locustiden) Räuber, die anderen (Acridier) Pflanzenfresser sind. Auch die Landschnecken sind ja als Pflanzenfresser sehr katalasereich. Ein durchgehender Unterschied läßt sich also auch nicht in bezug auf die Art der aufgenommenen Nahrung nachweisen.

Wie die Betrachtungen also lehren, ist es nicht möglich, irgendwelche durchgehenden gesetzmäßigen Beziehungen zwischen der Lebensweise und dem Katalasegehalt aufzustellen. Die Katalase unterliegt wahrscheinlich einer ganzen Reihe von Einflüssen, die aufeinander kompensatorisch wirken, so daß wir kein einheitliches Bild erhalten können. Ein sehr wichtiger Punkt ist z. B. folgender: Stellen wir uns auf den oft vertretenen Standpunkt, daß die Katalase bestimmt sei, im Überschuß vorhandene labile Peroxyde zu zersetzen, um die schädigende Wirkung übermäßigen nascierenden Sauerstoffs auf den Organismus aufzuheben, so kann sich die Beziehung dieser beiden Faktoren sehr wechselnd gestalten. Enthält eine Tierform sehr wenig Peroxyde, produziert also wenig O, so wird auch wenig Katalase nötig sein. Wird dagegen viel O erzeugt, so kann entweder viel Katalase da sein, um dessen Wirkung in mäßigen Grenzen zu halten, oder es kann wenig Katalase vorhanden sein, um, wie z. B. bei starken Fliegern, eine intensive Oxydation zu ermöglichen. Zur richtigen Bewertung dieser Verhältnisse müßte man also das Verhältnis von Peroxyden (resp. Peroxydasen, die ja sicher großenteils nur labile Peroxyde sind) kennen, ein Punkt, auf den besonders Dr. Ostwald hingewiesen hat. Die Versuche, solche vergleichende Messungen anzustellen, scheiterten daran, daß wir bisher noch kein Reagens besitzen, das die Wirkung einer Peroxydase quantitativ einwandfrei zu verfolgen gestattet.

Überblickt man die erhaltenen Werte im großen, so ist es interessant, daß man bis zu einem gewissen Grade ganz analog der Einteilung der Organismen nach ihrem morphologischen und anatomischen Bau auch gewisse Typen unterscheiden kann, die sich durch einen ganz charakteristischen

Katalasegehalt auszeichnen. Man kann gewissermaßen von einem Aktinien-, einem Echinodermen-Typus, von einem Typus der Entomostraca, der Asseln, der Decapoden, der Insekten, der Schnecken sprechen. Es macht dies fast den Eindruck, als ob analog den morphologischen Verhältnissen chemische Differenzierungen vorhanden seien. Wenn wir auch die Gründe noch nicht kennen, warum die einzelnen Organismen so verschiedene Mengen Katalase enthalten, so sind wir doch überzeugt, daß die im Innern der Tiere stattfindenden Stoffwechselvorgänge, die ja je nach den verschiedenen Tierspezies sehr verschiedenartig sind, in Zusammenhang mit dem Katalasegehalt zu bringen sind. Es sprechen hierfür besonders noch Beobachtungen, die zeigen, daß analog den Intensitätsschwankungen des Stoffwechsels auch Schwankungen des Katalasegehaltes auftreten. Und noch ein Umstand ist es, der hierbei in Betracht kommt, nämlich die Verteilung der Katalase in den Geweben.

Tabelle V.

Katalasegehalt der Organe der Decapoden.

Art der Organe	Potamobius astacus		Pagurus Prideauxii		Carcinus maenas	
	1 : 1000	Auf Trockengewicht	1 : 1000	Auf Trockengewicht	1 : 1000	Auf Trockengewicht
Lymphe	115	1 803	109	1709	108	1 677
Leber	2563	10 663	1288	5966	1825	7 588
Darm Min.	638	3 728	368	2186	551	2 788
Darm Max.	1023	4 928			7303	29 267
Geschlechtsorgane	1150	5 102	425	1847	550	1 832
Kiemen	261	2 218	930	2530	1639	7 638
Muskeln	274	1 486	413	1556	—	—
Herz	—	—	—	—	265	1 699

b) Verteilung der Katalase im Körper.

Wie für die ganzen Tiere, so gilt auch für deren Organe, daß die Quantität der Katalase je nach den verschiedenen Arten sehr verschieden ist. Auch innerhalb der einzelnen Gewebe desselben Organismus wechselt die Menge der Katalase ganz bedeutend; doch zeigt sich auch hier, daß der Fermentgehalt eines bestimmten Organes bei den verschiedenen Individuen der gleichen Spezies in gleichen Perioden durchweg im wesentlichen konstant ist. Gewisse individuelle Unterschiede treten selbstverständlich auch hier auf.

1. Katalasegehalt der Leber.

Von den Geweben der niederen Tiere ist die Leber immer am aktivsten. Das gilt sowohl für die Decapoden (Tabelle V) als auch für die Muscheln (Tabelle VI) und Schnecken (Tabelle VII). In zweiter Linie erst folgen Niere und Darm.

Tabelle VI.
Katalasegehalt der Organe der Muscheln.

Art des Gewebes	Mytilus edulis		Anodonta	
	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht
Lymphe	538	—	895	64854 (!)
Leber	—	—	22231	128060
Fuß: Min.	1650	7468	5775	29196
Max.	—	—	15995	87646
Mantel	876	—	1586	12025
Kiemen	2231	15569	1900	13294

Die relative Fermentmenge in den verschiedenen Gruppen ist ebenfalls sehr wechselnd. Sehr niedrige Werte besitzt die Decapodenleber, sehr hohe aber schon die Leber von Anodonta Auch die Schneckenleber, wenigstens die der Landschnecken, ist sehr katalasereich.

Es zeigt sich auch hier bei den Schnecken ein Unterschied zwischen den Wasser- uud Landformen.

Ganz entsprechende Verhältnisse finden wir auch bei den Wirbeltieren. Die Untersuchungen lehren auch hier, daß die Leber mit einigen Ausnahmen am meisten von diesem Enzym enthält. Battelli und Stern, die ausgiebige Versuche über den Katalasegehalt verschiedener Wirbeltiergewebe anstellten, bemerken: die Anordnung der verschiedenen Gewebe nach ihrem Katalasegehalt ist verschieden bei den Tierspezies, meist kann man folgende aufstellen: Leber, Niere, Blut, Milz, Herz, Muskel, Gehirn. Die Leber ist fast immer am katalasereichsten; Ausnahmen bilden die Natter und das Kaninchen, deren Blut am aktivsten ist. Auch bei den Vögeln ist nach ihnen die Hauptmasse in der Leber, dann Niere enthalten.

Rosenbaum gibt die Reihenfolge: Leber, Pankreas, Milz, Fett, Muskel, Gehirn. Und noch viele andere Forscher wie Mendel und Loewenworth, die die Katalase im Schweineembryo untersuchten, Lesser usw. finden fast immer wieder, daß die Leber an erster Stelle steht.

Tabelle VII.

Katalasegehalt der Organe der Schnecken.

Art des Gewebes	Murex brandaris		Planorbis corneus		Limnaea stagnalis		Helix pomatia		Helix hortensis		Arion empiricor. jung		Arion empiricor. alt	
	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht
Lymphe	130	3779	1105	39219	200	5053	142	4034	137	3892	2	62	254	7767
Leber: Min.	—	—	—	—	—	—	50591	228898	101775	294586	—	—	—	—
Max.	—	—	—	—	—	—	172688	685270	118700	359270	—	—	—	—
Durchschn.	8090	21210	8818	46509	58378	297544	—	—	—	—	232513	949874	167675	662159
Niere: Min.	—	—	—	—	—	—	22710	56629	75755	298031	—	—	—	—
Max.	—	—	—	—	—	—	107050	463590	114406	314648	—	—	—	—
Durchschn.	—	—	—	—	16700	52270	—	—	—	—	213800	1371392	85175	449235
Darm: Min.	—	—	—	—	—	—	41025	—	176675	638046	—	—	—	—
Max.	—	—	—	—	—	—	124650	544799	235400	765778	—	—	—	—
Durchschn.	—	—	5831	20539	6888	24259	85725	393863	—	—	194875	1020288	90725	433700
Hautschlauch	310	1076	1438	5843	976	4305	4004	19861	4153	19126	8750	61444	6620	39522
Zwitterdrüse:														
Min.	—	—	2356	9801	—	—	6418	52520	—	—	—	—	—	—
Max.	—	—	4198	22510	—	—	12875	83401	20688	109510	—	—	—	—
Durchschn.	—	—	—	—	12608	—	—	—	—	—	6013	38343	5590	41922
Eiweißdrüse	—	—	—	—	2103	7743	1078	6515	5433	12314	—	—	7795	43498
Eileiter	—	—	—	—	—	—	2535	7888	—	—	—	—	—	—
Receptaculum	—	—	—	—	—	—	6588	17859	—	—	—	—	—	—
Liebespfeilsack + fingerförm. Drüsen	—	—	—	—	—	—	1581	6689	—	—	—	—	—	—
Penis	—	—	—	—	—	—	2772	—	—	—	—	—	—	—
Byssusdrüse	6571	19540	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Obwohl die physiologische Bedeutung der Leber der Wirbellosen von der der Vertebraten sehr verschieden ist — fehlen doch gerade bei der Molusken- und Arthropodenleber die für die Wirbeltiere so charakteristischen Bestandteile, nämlich Gallensäuren und Gallenfarbstoffe —, so zeigten doch die Untersuchungen über den Reichtum der verschiedenen Gewebe übereinstimmend für beide Gruppen, daß die Leber fast immer am aktivsten ist. Daß die Stoffwechselvorgänge hierbei eine wichtige Rolle spielen, ist sehr wahrscheinlich. Dafür sprechen auch die Befunde von Blumenthal und Brahn, die bei Funktionsstörung der Leber durch Sarcome und Carcinome eine bedeutend herabgesetzte Katalysierfähigkeit beobachten konnten; selbst die gesunden Teile der mit Krebsknoten durchsetzten Leber zeigten einen auffallend niedrigen Katalasegehalt. Eine Antifermentwirkung kommt hierbei nicht in Betracht, wie die Mischungsversuche von normaler Leber und Carcinomknoten ergaben. Leider sind die Vorgänge des intermediären Stoffwechsels in der Leber recht unvollständig bekannt. Welche von den Prozessen in der Mitteldarmdrüse (= Leber) der Wirbellosen und in der Leber der Vertebraten mit der Katalase in Zusammenhang zu bringen sind, läßt sich noch nicht sagen. Als gemeinsame Funktionen haben ja die Mitteldarmdrüse der niederen Organismen und die Leber der Wirbeltiere wahrscheinlich den oxydativen Abbau der hydrolytischen Spaltprodukte zu Endprodukten des Stoffwechsels und die Synthese der Reservestoffe wie Fett, Glykogen, Eiweißkörper. Auf den Zusammenhang zwischen Fetten, Glykogen und dem Katalasegehalt soll aber erst später nach der Besprechung der Änderung der Katalasemenge in den verschiedenen Lebensperioden der Tiere eingegangen werden. Einstweilen sei nur darauf hingewiesen, da man schon hier daran denken könnte, daß das gleichartige Verhalten der beiden Organsysteme in bezug auf die Katalase mit den gemeinsamen Funktionen in Zusammenhang zu bringen sei.

2. Katalasegehalt der Niere.

Wie die Leber, so zeigt auch die Niere der Schnecken in bezug auf die Katalase mit der der Wirbeltiere eine auffällige Übereinstimmung. In beiden Gruppen entwickelte sie eine

ziemlich große katalytische Wirksamkeit. Wahrscheinlich ist es, daß auch hier die funktionellen Vorgänge Einfluß auf die hohe Aktivität haben. Es läßt sich aber bei dem lückenhaften und unsicheren Wissen über die vitalen Vorgänge in der Niere nichts Bestimmtes aussagen. Man muß einstweilen die auffällige Tatsache, daß die Niere der Schnecken z. B. und die der Säugetiere in bezug auf die Katalase sich sehr ähnlich verhalten, hinnehmen.

3. Katalasegehalt des Darmes.

Während die Leber durchschnittlich an erster Stelle steht, nimmt der Darm in der Reihenfolge der nach ihrem Katalasegehalt geordneten Gewebe eine sehr wechselnde Stellung ein. Den höchsten Wert, der überhaupt bei diesen Untersuchungen erhalten wurde, repräsentiert der Strongylocentrotus-Darm im Mai, etwas weniger aktiv ist der Asterias-, noch weniger der Cucumaria-Darm (Tabelle VIII). Diese außerordentlich große katalytische Energie ist sehr auffällig, aber einstweilen unerklärlich.

Tabelle VIII.
Katalasegehalt der Organe der Echinodermata.

Art des Gewebes	Strongylocentrotus		Asterias rubens		Cucumaria planci	
	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht
Leibeshöhlenfl. . .	70	1756	33	588	46	1160
Darm: Min. . . .	232025	1041000	132250	470810	13562	138040
Max. . . .	1093188	5382511	216400	717982	45288	206606
Ovar.	22451	88288	11815	35730	—	—
Hoden: Min. . . .	—	—	—	—	29475	203560
Max. . . .	—	—	—	—	40338	278577
Hautschlauch . . .	—	—	—	—	1785	9302
Wasserlungen . . .	—	—	—	—	15150	127260

Sehr schwankend ist der Katalasegehalt bei den einzelnen Vertretern der Würmer. Der Ascaris- und Hirudodarm haben eine sehr geringe Aktivität. Besonders letzterer zeigt noch große individuelle Schwankungen, die aber sicher mit abhängig von der Katalase des gesaugten Blutes sind. Es entspricht dies auch vollkommen den Verhältnissen, wie sie von Pütter[1])

[1]) Pütter, Zeitschr. f. allgem. Physiol. 6 u. 7, 217, 1907; 16, 1908.

im Verdauungstraktus des Blutegels festgestellt worden sind. Das gesaugte Blut, das meist ungeronnen und nicht verfault im Darme angetroffen wird, ist trotz eines Aufenthaltes von 2 bis 4 Monaten zum größten Teil nicht abgebaut; außer der Reduktion und der Eindickung hat es im Darme kaum chemische Veränderungen erlitten. Es wird dabei auch, wie ich feststellen konnte, die Katalase des gesaugten Blutes erhalten; erst allmählich, mit fortschreitender Verdauung verschwindet sie daraus.

Gute und sehr konstante Werte liefert der Spirographis-, sehr hohe der Lumbricusdarm (Tabelle IX). Vergleicht man den Grad der Ausnutzungsfähigkeit der Nahrung mit dem verschiedenen Katalasegehalt des Würmerdarmes, so erweckt es den Anschein, als ob ein gewisser Zusammenhang zwischen beiden bestehen möchte. Während Ascaris und Hirudo Nahrung geboten erhalten, die außerordentlich gut ausnutzbar ist, und dabei im Darm einen sehr geringen Katalasegehalt besitzen, ist besonders der Lumbricusdarm sehr aktiv und verdaut dabei Substanzen, deren Ausnutzungsmöglichkeit sehr gering ist. Dazu kommt noch, daß Hirudo so auffällig langsam verdaut, und daß dabei sicher nur sehr geringe chemische Umsetzungen vor sich gehen.

Der Darm der Decapoden (Tabelle V) gibt sehr niedrige Konstanten. Auffällig ist besonders ein nur einmal beobachteter sehr hoher Wert von Carcinus maenas (vgl. Tabelle V), wobei bemerkt werden muß, daß das Tier eben gefressen hatte und sich in vollem Verdauungszustande befand.

Tabelle IX.

Katalasegehalt der Organe der Würmer.

Art des Gewebes	Ascaris megaloceph.		Spirographis Spallanzanii		Hirudo medecinalis		Lumbricus terrestris	
	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht
Lymphe	165	4125	48605	148236	—	—	9238	89689
Darm: Min.	586	3417	13663	60410	526	3997	81075	363412
Darm: Max.	1080	10122			2501	18490	169725	571680
Geschlechtsorgane Min.	454	8360	—	—	1325	5198	15181	68610
Geschlechtsorgane Max.	13773	83070	—	—				
Hautschlauch	2239	9221	4825	25248	1017	9252	19375	83610
Kiemen	—	—	6110	31727	—	—	—	—

Was den Insektendarm (Tabelle X) anbelangt, so läßt sich durchweg eine gute Aktivität konstatieren. Bei den Locustiden und Acridiern ist er höher als alle anderen Gewebe. Bemerkenswert ist die gute Übereinstimmung bei beiden Arten, obwohl die einen Pflanzenfresser (Acridier), die anderen Räuber (Locustiden) sind. Unter den Coleopteren enthält der Darm der Calosomalarve, der der Geotrupes Imagines und der Oryctes-larve hohe, der der Oryctes Imagines noch größere Katalasemengen. Werte von ungefähr gleicher Höhe wie die Imagines des Nashornkäfers ergeben auch die Larven von Tenebrio molitor. Wahrscheinlich ist es, daß auch hier, wie schon früher bei Carcinus maenas erwähnt wurde, die jeweiligen Verdauungszustände eine Rolle spielen, da der Katalasegehalt des Darmes oft sehr beträchtlichen Schwankungen unterliegt. Sehr wenig katalytisch wirkt der Darm der Tipula gigantea-Maden und der Raupen von Bombyx mori.

Wenden wir uns nun dem Darm der Schnecken zu. Wie bei der Leber und der Niere, so läßt sich auch hier ein Unterschied zwischen Wasser- und Landtieren konstatieren. Während der Darm von Planorbis corneus und Limnaea stagnalis eine geringere Aktivität entwickelt, finden wir bei Helix pomatia schon sehr hohe Werte; außerordentlich groß ist der Fermentgehalt bei Helix hortensis und Arion empiricorum sowohl bei jungen als auch bei ausgewachsenen Tieren (Tabelle VII).

Über den Katalasegehalt des Wirbeltierdarmes haben wir nur recht spärliche Angaben in der Literatur finden können. Nur Battelli und Stern und Dziersgowski haben in jüngster Zeit das Verdauungssystem der höheren Tiere auf die Katalase hin untersucht. Dziersgowski speziell gibt an, daß in der Magenschleimhaut des Menschen der größte Fermentgehalt enthalten sei, in zweiter Linie folge die Magenschleimhaut des Hundes, des Kaninchens und Meerschweinchens und zuletzt der Vögel. Nach meinen Untersuchungen ist die Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Fähigkeit des Katzen-, Kaninchen-, Igel- und Mäusedarmes sehr gering. Der Darm der Vertebraten scheint nach diesen Stichproben also sehr wenig aktiv zu sein.

Es sind diese Befunde für die physiologische Bedeutung doch immerhin interessant. Da, wo der Darm nur die Funktion

der hydrolytischen Spaltung und einfache Synthesen ausübt, wo also besonders die oxydativen Spaltungsprozesse und die Fähigkeit, höhere Eiweißstoffe aufzubauen, fehlt, wie bei den Wirbeltieren, enthält er nur wenig Katalase, während er dort, wo er sich an der Assimilation der Nahrung sehr aktiv beteiligt, und wo nachgewiesenermaßen oft lebhaftere Oxydationsvorgänge vor sich gehen, wie bei vielen niederen Tieren, sich oft durch einen außerordentlich hohen Fermentgehalt auszeichnet. Auf die besonderen Verhältnisse des Ascaris- und Hirudodarmes wurde ja schon oben aufmerksam gemacht. Bemerkenswert ist besonders auch noch, daß da, wo der Darm ausgesprochene Leberfunktion mit ausübt, wo er also an Stelle oder zugleich mit der Leber den Abbau der hydrolytischen Spaltprodukte und die Synthese der Reservestoffe mit besorgt, wie bei den Echinodermen, Lumbricus terrestris, Mollusken und Insekten, außerordentlich katalasereich ist.

4. Katalasegehalt des Fettgewebes.

Das Fettgewebe der Vertebraten ist auf die Katalase hin schon häufig untersucht worden [Bach (1905), Euler (1906), Battelli und Stern, Liebermann, Steche und Waentig (1912)]. Alle stimmen darin überein, daß das Fettgewebe Extrakte von guter Aktivität liefert.

Über den Katalasegehalt des Fettgewebes der niederen Tiere ist bisher noch nichts bekannt. Es ist ja auch ziemlich schwierig, davon die zur Untersuchung nötigen Mengen zu erhalten. Als besonders geeignet erwiesen sich die Insekten, speziell die Larven und Imagines von Oryctes nasicornis, deren Fettgewebe sich als außerordentlich kräftig katalytisch wirksam erwies (Tabelle X). Wie hier, so konnte auch bei anderen Insekten nachgewiesen werden, daß der Katalasegehalt der Insekten zum großen Teil mit durch das Fettgewebe reguliert wird. Doch darüber möchte ich zusammenfassend erst später bei der Änderung der Katalase mit den verschiedenen Lebensperioden berichten.

5. Katalase der Lymphe.

Die Körperflüssigkeiten der niederen Tiere sind im großen und ganzen recht wenig aktiv, wie schon die Leibeshöhlenflüssigkeit der Echinodermata und die von Ascaris zeigt. Da

die Katalase durchweg an die morphologischen Elemente gebunden sein soll, und da besonders die Perivisceralflüssigkeit der Seeigel und Holothurien keine nennenswerten organischen Substanzen und keine verdauenden Enzyme enthält, so ist dieses Verhalten an sich schon erklärlich. Im direkten Gegensatz hierzu steht die Leibeshöhlenflüssigkeit von Spirographis, die eine außerordentlich große katalytische Energie entfaltet.

Tabelle X.

Katalasegehalt der Organe der Insekten.

Organismus	Katalasegehalt der Lymphe		Katalasegehalt des Darmes		Katalasegehalt anderer Gewebe	
	1:1000	auf Trock.-gewicht	1:1000	auf Trock.-gewicht	Art der Gewebe	1:1000
I. Archiptera:						
Aeschna gr., Larve . . .	220	—	—	—	—	—
II. Orthoptera:						
Periplaneta or.	415	—	—	—	—	—
Dixippus moros.	987	—	—	—	—	—
Decticus verruc.	563	—	44831	—	Ovar	2772
					Ovar mit Eier	1814
Locusta viridissima . . .	601	—	44613	—	Hoden	4147
					Ovar	4209
III. Diptera:						
Tipula gigant	—	—	6084	—	Hautschlauch	2091
IV. Coleoptera:						
Calosoma sycoph., Larve	2050	—	29913	—	Gewebe ohne Darm	13138
Dyticus marg., Imag. . .	13888	—	—	—	—	—
Hydrophilus pic., Imag. .	1081	—	—	—	—	—
Oryctes nasicor., Larve .	4453	43529	27869	—	Fettgewebe	73575
„ „ Imag. .	6121	—	49463	—	„	99044
Cetonia aurata, Larve . .	6262	—	—	—	—	—
Geotrupes silvat., Imag. .	3990	—	27604	—	—	—
Blaps mortis, Imag. . . .	1043	—	—	—	—	—
Tenebrio molitor, Larve .	—	—	45725	160970	Gewebe ohne Darm	50387
V. Lepidoptera:						
Pieris brass., Raupe . .	608	—	—	—	—	—
„ „ Puppe . .	748	—	—	—	—	—
Vanessa Jo., Raupe . . .	177	—	—	—	—	—
Bombyx mori	914	—	981	—	Gewebe ohne Darm	5006
	—	—	—	—	Spinndrüsen	778
Saturnia pavonia, Raupe	663	—	—	—	—	—
Leucoma salicis, Raupe .	937	—	—	—	—	—
Lymomtria dispar., Raupe	430	—	—	—	—	—
Lym. monacha, Raupe .	510	—	—	—	—	—
Harpyia vinula, Raupe .	219	—	—	—	—	—

Es handelt sich aber auch hierbei um eine zähe, dicke grünlichgraue Flüssigkeit, die sehr viel Trockensubstanz enthält. Sehr reich an Katalase ist besonders auch das rote Blut von

Lumbricus, dessen rote Farbe durch H_2O_2 in Gelb umschlägt. Auch das Blut von Arenicola soll nach Steche und Waentig sehr aktiv sein. Das gleiche Verhalten finden wir auch bei Planorbis, dessen rotes Blut — das Hämaglobin ist hier bekanntlich nicht an die Zellen gebunden, sondern gelöst in der Blutflüssigkeit —, auf das Trockengewicht berechnet, ziemlich hohe Werte ergibt, während das nicht rote Blut der anderen untersuchten Schnecken etwa 5 mal schwächer ist. Es erweckt hiernach den Eindruck, als ob ein Unterschied zwischen dem roten und dem farblosen Blut in bezug auf die Katalase bestehen möchte. Allerdings möchte ich noch bemerken, daß es bei Hirudo medicinalis schien, als ob hier das rote Blut keine höhere Aktivität entfaltete als das farblose. Leider gelang es nicht, genügend reine und ausreichende Mengen zu erhalten, und es war nur möglich, eine qualitative Messung damit auszuführen. Die anderen, schon erwähnten roten Blutsorten lassen aber immerhin ziemlich deutlich einen Unterschied von dem farblosen Blute erkennen. Daß die Ursache dafür nicht etwa in einem höheren Leukocytengehalt zu suchen ist, zeigt die Trockengewichtsbestimmung des Blutes von Planorbis, das sehr wenig organische Substanzen enthält. Wie dieses auffällige Verhalten zu erklären ist, ist schwer zu sagen. Einerseits könnte man daran denken, daß der rote Farbstoff an sich eine bedeutende katalytische Kraft besäße. Nun hat aber bereits Bergengrün die Beobachtung gemacht, daß das Hämoglobin keine katalytischen Eigenschaften zeigt, was Ville und Moitessier und Senter bestätigen können. Die Katalase ist zwar an die roten Blutkörperchen, aber nicht an das Hämoglobin gebunden. Eine derartige Annahme ist also nicht haltbar. Andererseits ist darauf schon hingewiesen, daß die Blutkatalase die Funktion habe, aus dem Hämoglobin Sauerstoff abzuspalten. Bereits Jolles macht 1904 darauf aufmerksam, allerdings, ohne irgendwelche experimentellen Beweise dafür zu bringen. Besonders aber ist es Ewald, der sich mit dieser Frage experimentell näher befaßte, und der bewiesen zu haben glaubte, daß die Katalase den Sauerstoff aus dem Hämoglobin an die Gewebe übermittelte. Gegen seine Beobachtungen und Deutungen sind aber, besonders von v. Fürth und Czylharz und von Dunker und Jodlbauer

sehr wesentliche Einwände gemacht. Eine Erklärung für die besondere Aktivität des hämoglobinhaltigen Blutes fehlt also noch.

Wie das rote Blut der Schnecken, so ist auch die Lymphe der Decapoden recht wenig aktiv. Sehr arm an Katalase ist unter den Insekten, speziell Orthopteren, die Lymphe von Periplaneta orientalis, Dixippus morosus und Decticus verrucivorus. Bedeutend reicher aber zeigt sich die dickere Leibeshöhlenflüssigkeit der Coleopteren, während die klare Lymphe der Lepidopteren wieder recht wenig aktiv ist. Es macht hier fast den Eindruck, als ob die Zahl der Leukocyten hierbei mit in Betracht kommen möchte. Auffällig bleibt besonders der große Unterschied im Katalasegehalt der Lymphe bei zwei sehr nahe verwandten Coleopteren, Hydrophilus und Dyticus marginalis. Während das Blut des letzteren sich durch eine hohe Aktivität auszeichnet, ist bei Hydrophilus eher das Gegenteil der Fall. Schon W. Ostwald macht auf die hohe katalytische Energie der Dyticuslymphe aufmerksam. Wodurch diese Verschiedenheit bedingt sein könnte, läßt sich einstweilen nicht feststellen.

Zum Schluß möchte ich noch auf die Lymphe von Anodonta aufmerksam machen. Wie wir sahen, war das nicht hämoglobinhaltige Blut der niederen Tiere fast inaktiv. Ausnahmen davon machten nur die Coleopteren und Spirographis Spallanzanii. Doch ließen sich diese durch ihren höheren Leukocytengehalt erklären. Es ist ja schon mehrfach auf eine Parallelität zwischen Leukocytenzahl und Katalasegehalt hingewiesen worden.

Aus dieser Reihe fällt nun vollständig die Lymphe von Anodonta heraus, die, auf das Trockengewicht berechnet, von sehr hoher Aktivität ist. Daß hierfür nicht die Zahl der morphologischen Elemente in Betracht kommt, ist durch die sehr geringe Trockensubstanz erwiesen. Es muß aber betont werden, daß es außerordentlich schwierig ist, reine Lymphe von Anodonta zu erhalten. Man gewinnt sie ja auf folgende Art, indem man, nachdem man die Schale von oben angebrochen hat und das Wasser zum größten Teile abgetropft ist, das Herz fein herauspräpariert und es anschneidet. Mit Hilfe einer feinen Pipette können dann von jedem Tier mehrere

Tropfen gewonnen werden, die dann weiter untersucht werden. Bei einer derartig schwierigen Gewinnung ist es sehr leicht möglich, daß irgendwelche anderen Stoffe miterhalten werden, daß z. B. einerseits Wasser mit entnommen wurde, das das außerordentlich niedrige Trockengewicht erklären würde, andererseits kleine Mantelstücke, die für die relativ hohe Aktivität verantwortlich gemacht werden können, der Lymphe als Verunreinigungen beigemengt waren. Außerdem erhält man bei derartigen Untersuchungen nur so kleine Quantitäten, daß die Fehlerquellen sich hierbei recht störend bemerkbar machen.

Von den übrigen Organen ist wenig zu erwähnen, sie sind nur der Vollständigkeit halber mit aufgenommen. Hervorgehoben könnte noch werden, daß der Hautmuskelschlauch der Würmer und Mollusken durchweg sehr gering katalytisch wirksam ist, obwohl sich auch in ihm bei der Bewegung sicher lebhafte Stoffwechselprozesse abspielen.

c) Änderung der Katalase im Lebenszyklus.

a) Aktivierung im Sommer.

Auf eine Änderung der Katalase während der Lebensperioden der ausgewachsenen Tiere wurde besonderer Wert gelegt. Die Untersuchungen waren schon von Anfang an so gedacht, die Tiere immer und immer wieder zu den verschiedensten Jahreszeiten vorzunehmen. Es schwanken ja die Stoffwechselvorgänge zu den verschiedenen Zeiten sehr stark, und es sollte nun festgestellt werden, ob etwa den Intensitätsschwankungen des Stoffwechsels auch gesetzmäßige Änderungen des Katalasegehaltes parallel gingen, da sich von diesem Gesichtspunkte aus eventuell ein Aufschluß über die biologische Bedeutung dieses Fermentes erwarten ließ.

Irgendwelche Angaben, daß sich bei vielen Tieren z. B. ein Unterschied in der katalytischen Kraft während des Sommers und des Winters bemerkbar macht, sind uns aus der Literatur nicht bekannt.

In Tabelle XI sind nun die Werte in der günstigen und ungünstigen Jahreszeit von denjenigen Organismen zusammengestellt, die während besonders günstiger Lebensperioden eine Zunahme der Katalase zeigen.

Tabelle XI.
Änderung des Katalasegehaltes während des Winters und Sommers.

Organismus	Art des Gewebes	Datum	1 : 1000	Auf Trocken-gewicht	Trocken-gewicht %
Strongylocentrotus	Darm	13. I. 1913	232025	1041000	22,29
	„	22. V.	1093188	5382511	20,31
Asterias rubens . .	Darm	26. III. 1913	132250	470810	28,09
	„	11. VII.	216400	717982	30,14
Cucumaria planci .	Darm	17. I. 1913	13562	138040	12,38
	„	11. VII.	45288	206606	21,92
Lumbricus terrestr.	Darm	28. XI. 1912	81075	363412	22,31
	„	20. VI. 1913	126375	566450	22,31
	„	3. VII.	169725	571680	29,72
	„	10. VII.	431325	975497	38,88
	ganzes Tier	28. XI. 1912	53781	196470	26,75
	„ „	9. I. 1913	36644	177420	20,21
	„ „	3. VII.	94010	375070	25,06
	„ „	10. VII.	113719	443868	25,62
Helix pomatia . .	Leber	22. XI. 1912	50591	228815	22,11
	„	3. VI. 1913	172688	685270	25,20
im Zustand d. Trockenst.	„	15. VII.	29871	103146	28,96
	Niere	12. XII. 1912	22710	56629	40,18
	„	3. VI. 1913	107050	463590	25,61
„ „	„	15. VII.	15031	52282	28,75
	Darm	13. XII. 1913	41025	234696	17,48
	„	16. VI.	85725	393863	21,76
„ „	„	15. VII.	47762	228635	20,89
	ganze Tiere	12. XII. 1912	8613	46331	18,59
	„ „	3. VI.	10108	45675	22,13

Von den Organismen, die eine Aktivierung im Sommer erkennen lassen, sind zuerst die Echinodermata hervorzuheben. Wie die Tabelle zeigt, läßt sich hier ganz deutlich eine Zunahme der Aktivität des Darmes, sowohl bei Strongylocentrotus als auch bei Asterias rubens und Cucumaria planci wahrnehmen. Interessant ist es, daß Cohnheim[1]) für die Kohlenhydratverdauung bei Echinodermen etwas Ähnliches nachgewiesen hat. Er fand, daß das Invertin und die Diastase der Holothuriendärme im Winter nur sehr schwach wirksam war. Ein ähnliches Verhalten zeigt der Regenwurm. Der Darm enthält im Sommer ebenfalls bedeutend mehr Katalase als im Winter (siehe Tabelle XI), dabei läßt auch das ganze Tier eine Zunahme erkennen, die aber wahrscheinlich durch den Darm be-

[1]) Cohnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 1901.

dingt ist, da der Hautschlauch und die Geschlechtsorgane fast keine höheren Konstanten geben. Die Tiere ließ ich, um Gewichtsfehler durch die im Darm enthaltene Erde zu vermeiden, längere Zeit hungern und untersuchte sie von Zeit zu Zeit. Mit zunehmender Reinheit steigen natürlich auch die Katalasewerte. Man muß bei der Beurteilung der so erhaltenen Werte sehr vorsichtig sein, da man ja nie genau weiß, ob die Erde ganz aus dem Darm ist oder nicht. Selbstverständlich wurde den Tieren Filtrierpapier gereicht, um ja größte Reinheit zu erzielen.

Das frappanteste Beispiel für eine Aktivierung im Sommer sind die Schnecken, speziell Helix pomatia. Sie wurden sowohl während des Winterschlafes als auch während ihrer größten Lebenstätigkeit untersucht. Besonders auffällig ist hierbei, daß nur die Organe, die bei den Stoffwechselvorgängen die Hauptrolle spielen, wie Leber, Niere, Darm, im Sommer wesentlich aktiver sind als im Winter, während die ganzen Tiere und die anderen Organe keinen wesentlichen Unterschied erkennen lassen. Daß die ganzen Tiere die zu erwartende Zunahme nicht zeigen, beruht wahrscheinlich darauf, daß diese Extrakte sich sehr schlecht filtrieren lassen. Die schleimigen Bestandteile des Hautschlauches verstopfen die Poren des Filters, und dabei geht sicher nur ein geringer Teil der Katalase bei der sehr langsamen Filtration in das Filtrat über. Interessant ist es nun, daß man auch im Sommer eine Aktivitätsabnahme hervorrufen kann, wenn man die Tiere im Trocknen und ohne Nahrung hält. Sie ziehen sich dann in ihr Gehäuse zurück und verfallen genau so wie im Winter in einen Zustand minimaler Lebenstätigkeit. Es ergaben sich dabei dieselben Katalasewerte wie im Winter.

Es scheint nun nach diesen Versuchen die Annahme berechtigt, daß mit den verschiedenen Intensitätsschwankungen des Stoffwechsels auch gesetzmäßige Schwankungen des Katalasegehaltes parallel gehen. Im Winter, wo die Stoffwechselvorgänge auf ein Minimum reduziert sind, ist auch der Katalasegehalt herabgesetzt, während im Sommer mit einer Steigerung dieser Prozesse auch eine Zunahme der Katalase verknüpft ist. Nun gehen ja dabei auch größere Oxydationsprozesse vor sich, und man könnte vermuten, daß damit die höhere Aktivität im

Zusammenhang zu bringen wäre. Daß dies aber weniger der Fall zu sein scheint, lehrt ein anderes interessantes Beispiel.

Es war natürlich wünschenswert, zu erfahren, ob die Wirbeltiere während des Winterschlafes und während des Sommers ähnliche Zustände in bezug auf die Katalase erkennen lassen, wie die Schnecken. Als geeignetes Objekt erwies sich in dieser Hinsicht der Igel. Wie man nun aus der Tabelle XII ersieht, zeigt sich bei ihm das umgekehrte Verhalten. Wir finden im

Tabelle XII.

Katalasegehalt der Organe des Igels.

Art der Gewebe	Während des Winterschlafes			Während des Sommers			Trockengewicht
	Datum	1 : 1000	Auf Trockengewicht	Datum	1 : 1000	Auf Trockengewicht	%
Blut . .	24. II. 13	—	—	28. VIII. 13	22588	105207	21,47
Leber . .	„	212980	856754	„	147450	510031	28,91
Niere . .	„	58200	201519	„	32020	139943	22,88
Darm . .	„	1197	4748	„	949	3764	25,21
Lunge . .	„	10194	44514	„	9575	41101	22,90
Herz . .	„	1342	5400	„	1442	4990	24,85
Bauchfell	„	13319	49584	„	—	—	—
Gehirn .	„	1690	7979	„	1718	8110	21,18
Hoden .	„	4934	28703	„	1975	11490	17,19
Galle . .	„	712	6384	„	307	2753	11,15

Winter, besonders in der Leber und Niere, eher eine höhere Aktivität als im Sommer. Die Oxydationsprozesse gehen aber sicher auch hier zurück, wenigstens ist der Sauerstoffverbrauch nach Regnault und Reiset[1]) bei einem nahen Verwandten des Igels, dem Murmeltier, während des Winterschlafes sehr gering. Eine Abhängigkeit der Katalase nur von den Oxydationsprozessen ist hiernach nicht anzunehmen, denn sowohl bei den Schnecken als auch beim Igel findet ein Sinken der Oxydationsprozesse statt, während der Katalasegehalt dagegen ein ganz entgegengesetztes Verhalten zeigt. Es existieren in der Literatur speziell über die Vorgänge in der Leber während des Winterschlafes und des Sommers sowohl bei den Schnecken als auch bei den Wirbeltieren nähere Angaben, die die Verschiedenheit in den Befunden vielleicht erklärlich erscheinen

[1]) Regnault und Reiset, Ann. de Chimie, 3. Ser. **26**, 483, bis 490, 1849.

lassen. Young[1]) gibt an, daß 4 bis 5 Wochen nach Beginn des Winterschlafes das Glykogen aus der Schneckenleber vollkommen verschwunden sei, und auch zur Sommerszeit sollen nach übereinstimmenden Angaben von Barfurth und Young[2]) 2 bis 3 Wochen genügen, um das Glykogen zum Schwinden zu bringen. Im Gegensatz dazu teilen Weinland und Riehl[3]) mit, daß das Glykogen in der Leber bei einem Verwandten des Igels, dem Murmeltier, während der Dauer des Schlafes pro Kilogramm Körpergewicht kaum eine Änderung erfährt und daß dagegen bei jedem Aufwachen ca. 4 g Glykogen verbrannt werden und daß, da der anfängliche Glykogengehalt vor dem letzten Aufwachen wieder hergestellt ist, während der Ruhe eine Glykogenneubildung eintreten muß. Man sieht also hieraus, daß diese Vorgänge direkt entgegengesetzt verlaufen.

Vergleichen wir hiermit die erhaltenen Katalasewerte, so ergibt sich eine auffällige Beziehung zwischen dem Glykogengehalt und unserem Ferment. Der Glykogenhalt der Leber bei Helix pomatia sinkt während des Winterschlafes und entsprechend auch die Katalasemenge. Beim Igel dagegen — man kann wohl die Verhältnisse vom Murmeltier auf den Igel übertragen — kann man im Winter kaum eine Abnahme des Glykogens in der Leber nachweisen, ebenso ist dies mit der Katalase der Fall.

Etwas Ähnliches finden wir auch bei den Insektenpuppen. Auch hier tritt in einer Periode, in der der Organismus keine Nahrung aufnimmt, Kohlenhydratbildung auf, und entsprechend finden wir auch hier hohe Katalasewerte.

Ein weiteres analoges Beispiel konnte bei Ascaris bemerkt werden. Nach Weinland[4]) zeigte sich bei Ascaris während der Hungerperiode eine Verminderung des Glykogens, und entsprechend konnte Lesser nachweisen, daß nach 5 Hungertagen die Katalase um ein Drittel des ursprünglichen Wertes zurückgegangen war.

Ziehen wir hierbei noch in Betracht, daß die Leber der Wirbellosen und der Vertebraten sich in bezug auf die Katalase, wie schon oben erwähnt, so gleichmäßig verhält, daß sie durch-

---

[1]) Young, zit. Fürth, Lehrbuch der Physiologie.
[2]) Barfurth und Young, Arch. f. mikrosk. Anat. 28, 331, 1885.
[3]) Weinland und Riehl, Zeitschr. f. Biolog. 50, 1908.
[4]) Weinland, Zeitschr. f. Biol. 42, 1901; 43, 1901.

weg das katalasereichste Organ repräsentiert, und daß sie bei beiden Gruppen wenigstens die Glykogenfunktion gleichmäßig besitzt, so macht es den Eindruck, als ob ein Zusammenhang zwischen den Vorgängen bei der Glykogenumsetzung und der Katalase bestehen möchte.

Aber nicht alle Tiere lassen im Sommer eine Aktivierung erkennen. Wie die Untersuchungen lehren, konnte bei Spirographis, bei den Muscheln, bei Limnaea stagnalis kein Unterschied in der katalytischen Kraft während des Winters und Sommers festgestellt werden. Es muß aber betont werden, daß diese Organismen erst untersucht wurden, nachdem sie längere Zeit in den Becken der Aquarien zugebracht hatten. Die Tiere befanden sich also unter relativ günstigen Lebensbedingungen, sie bewegten sich und nahmen auch Nahrung auf. Die Echinodermata, Lumbricus, Helix pomatia wurden sofort, nachdem sie angekommen waren, untersucht. Das verschiedene Verhalten ließ sich somit zum Teil durch die Umstände erklären.

b) Änderung der Katalase mit der Entwicklung.

Wie auf eine Änderung des Katalasegehaltes während der verschiedenen günstigen und ungünstigen Lebensbedingungen, so wurde auch auf eine Änderung dieses Fermentes mit der Entwicklung besonderer Wert gelegt, da sich auch hier ev. ein Aufschluß über die biologische Bedeutung erwarten ließ. Untersuchungen über diesen Punkt sind schon bedeutend häufiger. Besonders Steche und Waentig[1]) haben an den Larven der Lepidopteren sehr interessante Befunde feststellen können. Es galt nun diese Versuche weiter auszudehnen.

Wie man aus den Tabellen XIV und XV sieht, ist der Fermentgehalt der jungen Tiere ein recht hoher. Besonders die jungen Schnecken von Arion empiricorum sind bedeutend aktiver als die ausgewachsenen. Auch Steche und Waentig machten an Sphinx ligustri die auffällige Beobachtung, daß die frisch aus dem Ei geschlüpften Räupchen einen recht erheblichen Vorrat an Katalase besaßen. Es war nun von Wichtigkeit zu erfahren, ob dieser schon aus dem unbefruchteten Ei stammt oder erst während der Entwicklung gebildet wird.

[1]) Siehe Fußnote 2 auf S. 39.

Tabelle XIII.

Katalasegehalt unreifer und reifer Eier.

Organismus	Unreife Eier		Reife Eier	
	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht
Strongylocentrotus: Max.	23073	101119	Nach Steche u. Waentig	
Min.	14807	80300	sehr wenig aktiv	
Asterias rubens	11815	35730	—	—
Ascaris megaloc.	13773	83070	454	8360
Astacus fluviatilis	—	—	206	—
Decticus verrucivorus	—	—	625	—
Vespa vulgaris	—	—	1685	—
Pieris brassicae	—	—	2532	—
Helix pomatia	—	—	161	5547
Schildkröte	3197	7117	342	659

Die Untersuchungen in dieser Hinsicht haben nun ganz auffällige Befunde ergeben. Die unreifen Eier sind, wie ich bei Schildkröten, Ascaris, Echinodermata (Tabelle XIII) feststellen konnte, gegenüber den reifen Eiern außerordentlich aktiv. Während der Reifeprozesse tritt eine allmähliche Abnahme in dem Katalasegehalt ein. Die reifen Eier selbst sind, wie die Beispiele von Ascaris, Astacus fluviatilis, Dixippus morosus, Decticus verrucivorus, Vespa vulgaris, Pieris brassicae, Smerinthus ocellatus, Limax agrestis, Helix pomatia, Schildkröte zeigen, sehr katalasearm.

Tabelle XIV.

Katalasegehalt während der Entwicklung von Limax agrestis.

	1:1000	Auf Trockengewicht
Eier kurz vor dem Schlüpfen	263	—
Schnecken eben schlüpfend	7094	—
Schnecken von mittlerer Größe	51713	238200

Tabelle XV.

Katalasegehalt während der Entwicklung von Arion empiricorum.

	1:1000	Auf Trockengewicht	Trockengewicht %
Sehr junge Tiere, noch nicht ganz ausgefärbt	91775	517081	17,71
Mittlere Tiere	47475	273162	17,38
Alte Tiere	34863	243970	14,29

Eine wesentliche Aktivierung scheint mit der Befruchtung nicht verbunden zu sein. Wenigstens ließen Mischungsversuche von Sperma und Eiern bei Strongylocentrotus nach Versuchen von Steche und Waentig keine Zunahme erkennen. Auch Lyon und Terry erwähnen, daß die Katalase in den Seesternen und Seeigeleiern nach der Befruchtung eher abnimmt. In einer späteren Arbeit von Lyon dagegen sollen Eier von Toxopneustes und Arbacia, die im Seewasser gehalten wurden, nach der Befruchtung mehr Sauerstoff entwickeln als die unbefruchteten. Leider gelang es mir nur, unreife Echinodermeneier zu untersuchen, die ziemlich hoch aktiv waren, während die reifen und befruchteten Eier nach Steche und Waentig sehr gering katalytisch wirksam waren.

Auch bei Mischungsversuchen der Geschlechtszellen von Ranaarten konnten Steche und Waentig im Gegensatz zu Ostwald keine Aktivierung bemerken. Allerdings tritt gerade im letzteren Falle keine direkte Befruchtung ein.

Während der Entwicklung nun zeigen die Insekten- und Schneckeneier keine auffallende Änderung im Katalasegehalt; auch Lyon bestätigte diese für die Echinodermen. Erst im Moment des Schlüpfens nimmt die Katalase rapid zu und erreicht in kurzer Zeit ein Maximum.

Besonders gut konnte der Übergang des Embryos in das junge Tier bei Limax agrestis beobachtet werden. Die Eier, die direkt vor dem Schlüpfen standen, waren recht inaktiv (Tabelle XIV), während die eben schlüpfenden Tiere, die sofort in Chloroform abgetötet wurden, bedeutend stärker katalysierten. Leider wurde zu diesen Versuchen das Material völlig aufgebraucht. Erst an Arion empiricorum gelang es, den Entwicklungszyklus bei den Schnecken weiter zu verfolgen.

Die sehr jungen Tiere, die noch nicht ganz ausgefärbt waren, enthielten eine sehr große Katalasemenge (Tabelle XV). Von da an nahm sie ab, die Tiere von mittlerer Größe waren besonders in ihren Organen wie Leber, Darm wesentlich aktiver als die ausgewachsenen (Tabelle VII), um dann den charakteristischen Wert für die geschlechtsreifen Organismen zu erreichen.

Ähnliche Verhältnisse konnte ich auch bei den Insekten konstatieren (Tabelle XVI und XVII), speziell an Dixippus

morosus und Smerinthus ocellatus. Auch hier waren die reifen und befruchteten Eier sehr wenig aktiv; während der Entwicklung im Ei änderte sich die Katalasemenge nicht erheblich. Erst mit dem Ausschlüpfen der jungen Larven trat ein sehr hoher Fermentgehalt auf. Das gleiche Verhältnis fanden ja Steche und Waentig auch bei Sphinx ligustri.

Tabelle XVI.

Katalasegehalt während der Entwicklung von Dixippus morosus.

	1:1000
Eier eben abgelegt . . .	1934
„ 1 Woche alt	1657
„ 2 Wochen „	1643
„ 3 „ „	1658
„ 4 „ „	2408
Eben geschlüpfte Tiere .	61996
ca. 8 Tage ältere Tiere .	66210
„ 4 Wochen alte Tiere .	62886
Ausgewachsene Tiere . .	62538

Tabelle XVII.

Katalasegehalt während der Entwicklung von Smerinthus ocellatus.

	1:1000	Auf Trockengewicht	Trockengewicht %
Eier 1 Tag alt	5063	—	—
„ 2 Tage „	5044	—	—
„ 3 „ „	4263	—	—
„ 4 „ „	3231	—	—
„ 5 „ „	2863	—	—
„ 6 „ „	3894	—	—
„ 7 „ „	3750	—	—
„ 9 „ „	4425	—	—
Raupen eben schlüpfend . .	15338	—	—
„ 1 Tag alt mit Futter	13650	—	—
„ vor 2. Häutung . .	26013	108900	23,89
„ nach 2. „ . .	23119	142785	16,19
„ „ 3. „ . .	9363	66063	14,13
Eben „ 4. „ . .	7694	53943	14,26
Länger „ 4. „ . .	12535	86610	14,47
Kurz vor Verpuppung . . .	20923	140770	14,86
Puppen (alte)	58090	129310	43,90!
Imagines voll Eier	14360	45414	31,62

Bei den dotterreichen Eiern und Säugetieren scheinen nun die Verhältnisse insofern etwas anders zu sein, als hier während der Entwicklung eine höhere katalytische Energie erzielt wird, ohne allerdings während des Embryonallebens die für

die jeweiligen Arten charakteristischen Werte zu erreichen. Für die Hühnereier geben Winternitz und Rogers folgendes an: Frische Hühnereier haben eine schwache, wenn auch deutliche Wirkung, die unverändert monatelang erhalten bleibt. Die einzelnen Teile, wie Dotter und Eiweiß, haben keine wesentliche katalytische Wirkung. Das Keimzentrum bebrüteter und befruchteter Eier gewinnt rasch an katalytischer Wirkung; Dotter, Eiweiß, Amnionflüssigkeit, ebenso die unbefruchteten Eier zeigen nach 21 tägiger Bebrütung keine Zunahme. Die katalytische Wirkung hat also ihren Ursprung in dem sich entwickelnden Keimzentrum. Leider fehlen hier die Angaben über die jungen Küken.

Tabelle XVIII (nach Battelli und Stern).
Katalasegehalt der Gewebe des sich entwickelnden Meerschweinchens.

Meerschweinchen	Leber	Blut	Niere	Milz	Lunge	Muskel	Gehirn
Embryo von 5 g .	350	—	30	—	—	—	12
„ „ 17 g .	450	—	70	230	—	15	12
„ „ 36 g .	780	390	110	290	—	19	12
Foetus	1200	405	150	300	180	24	16
Neugeborenes . .	1080	450	210	285	255	26	14
1 Tag altes . . .	1050	510	240	330	330	22	15
2 Tage „ . . .	2000	510	240	330	360	24	14
3 „ „ . . .	2700	450	300	300	375	24	15
5 „ „ . . .	4650	465	375	285	375	26	16
7 „ „ . . .	5400	480	410	285	360	24	16
Ausgewachsenes .	5800	490	480	350	260	34	20

Auch die Untersuchungen an den Säugetieren zeigen etwas Ähnliches. Nach Angaben von Battelli und Stern enthalten die neugeborenen Meerschweinchen (Tabelle XVIII) bedeutend weniger Katalase als die ausgewachsenen. Erst nach der Geburt nimmt die Katalase rapid zu und erreicht in wenigen Tagen die normale Menge. Der Katalasegehalt des fötalen Kaninchens ist, wie Lockemann und Thies berichten, ebenfalls geringer als der des mütterlichen Tieres; und zwar schwankt die fötale Katalasezahl meistens zwischen $^1/_3$ und $^2/_3$ des mütterlichen Tieres. Buxton und Schäffer geben ebenfalls an, daß die embryonalen Gewebe weniger Katalase enthalten als die ausgewachsenen. Mendel und Leavenworth dagegen wollen keinen Unterschied zwischen den embryonalen und ausgewachsenen Geweben beim Schweine, wenigstens nicht in

der Leber, bemerkt haben. Die Werte für die Lunge und Niere des Embryos lassen aber ganz deutlich eine geringere katalytische Kraft erkennen, als die entsprechenden Organe des ausgewachsenen Schweines. Daß bei der Leber dieser Unterschied nicht wahrgenommen werden konnte, liegt daran, daß im Verhältnisse zum Wasserstoffsuperoxyd die angewandte Gewebemenge zu groß war.

Wir haben es hier also mit ganz charakteristischen Gesetzmäßigkeiten zu tun, die wahrscheinlich für die ganze Tierwelt Geltung haben; einerseits also mit einer Abnahme vom unreifen zum reifen Ei und andererseits mit einer bedeutend geringeren Aktivität während des Embryonallebens. Was besonders diesen letzten Punkt betrifft, so scheinen die Stoffwechselvorgänge der fötalen Organismen für den geringen Katalasegehalt der Foeten von Bedeutung zu sein. Wahrscheinlich ist, daß durch die latente Funktion der Organe diese niedrige Aktivität bedingt ist. Erst nach der Geburt, wenn die Organe ihre volle Funktion aufnehmen, tritt ja die rapide Zunahme auf. Daß hierbei die Sauerstoffaufnahme lediglich den bestimmenden Faktor abgeben soll, ist nicht nachzuweisen. Einen eindeutigen Einfluß der Atmung auf den Katalasegehalt des Kaninchenblutes konnten Lockemann und Thies auch in dem Falle nicht erkennen, wo die Foeten längere Zeit am Leben erhalten werden konnten. Es kommt hierbei weniger die Sauerstoffaufnahme in Betracht, als vielmehr der Punkt, welche Stoffwechselprozesse vor sich gehen. Gerade da, wo sehr bedeutende Oxydationsprozesse stattfinden, wo die Sauerstoffaufnahme um das 6 bis 7 fache vergrößert ist, wie bei der Befruchtung, sind mit die niedrigsten Werte im ganzen Leben der Organismen erhalten worden.

Auch bei den Pflanzen sind die verschiedensten Entwicklungszustände auf die Katalase hin des näheren untersucht worden. Was hier besonders die Periode der Reifung anbelangt, so ist es Tallarico, dessen Arbeit leider nicht im Original erhalten werden konnte, der an der Banane feststellte, daß die katalytische Wirkung im grünen Stadium und während der Reifung noch intensiv, in den schwarz gewordenen Früchten nach beendeter Reife aber auch bedeutend abgeschwächt ist. Zaleski und Rosenberg[1]) geben an, daß während der Kei-

[1]) Zaleski und Rosenberg, diese Zeitschr. 33, 1911.

mung der Weizensamen — die reifen Samen sind hier ebenfalls wenig aktiv — die Menge der Katalase bis zu einem Maximum zunimmt und dann abfällt. Früher schon (1909) hat Delano[1]) nachgewiesen, daß während der Keimung der Ricinussamen sich die Katalase rasch bis zu einem Maximum vermehrt, um sodann wieder in Menge und Wirksamkeit abzunehmen. Zeitlich fällt nach dem Verfasser das Verschwinden der Katalase mit dem des Fettes zusammen. Es erinnern diese Zustände sehr an die weitere Entwicklung der Schnecken, wie sie schon skizziert wurde, und an die der Insekten, auf die im folgenden weiter eingegangen werden soll.

Tabelle XIX.
Katalasegehalt bei der Entwicklung von Periplaneta orientalis und Forficula auricularia.

	Periplaneta orientalis		Forficula auricularia	
	1 : 1000	Auf Trockengewicht	1 : 1000	Auf Trockengewicht
Ganz junge Larven . .	1891	—	27050	121029
Mittlere Larven . . .	2478	6482	—	—
„ „ . . .	1406	4445	—	—
Ausgewachsene Larven	1447	4452	29288	125109
„ „	1731	5360	26560	119910

Interessant gestalten sich die Untersuchungen bei der postembryonalen Entwicklung der Insekten.

Periplaneta orientalis, Forficula auricularia (Tabelle XIX), Dixippus morosus (Tabelle XVI), Tiere mit hemimetaboler Entwicklung, lassen keinen Unterschied zwischen den ausgebildeten und den sich entwickelnden Organismen erkennen.

Anders liegen nun die Verhältnisse bei den holometabolen Insekten, wobei als Norm die Lepidopteren angenommen werden sollen, da sie die geeignetsten Untersuchungsobjekte abgaben. Es wurden die verschiedensten Spezies untersucht (Tabelle XX). Ich konnte durchweg die gleichen Verhältnisse, wie sie schon Steche und Waentig angeben, konstatieren. Die eben geschlüpften Räupchen zeichnen sich, wie schon erwähnt, durch ihren hohen Fermentgehalt aus. Ein Unterschied in den jungen Larven bei Smerinthus ocellatus, von denen ein Teil mit Futter

[1]) Delano, Centralbl. f. Bakt. 24, 1909.

Tabelle XX.

Katalasegehalt der Lepidopteren.

Organismus	Um 1. Häutung	Nach 2. Häutung		Nach 3. Häutung		Nach 4. Häutung		Nach 5. Häutung, resp. puppenreif		Eben verpuppt		Ältere Puppen		Imag., eben geschlüpft	Imag., länger geschlüpft
	1:1000	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	1:1000
I. Rhopalocera.															
Fam. Pieridae:															
Pieris brassic. . . .	8675	24909	—	11416	—	8213	—	38481	—	39318	—	25319	70319	—	3778
Fam. Nymphalidae:															
Vanessa Jo.	—	29578	—	—	—	—	—	—	—	11231	—	10243	—	11956	—
Vanessa atalanta . .	—	34844	—	—	—	—	—	9675	53865	9078	38396	13562	—	11128	4068
II. Heterocera.															
1. Sphinginea.															
Fam. Sphingidae:															
Smerinthus ocellatus	26013	23113	42275	9363	66063	7694	53943	20923	140770	—	—	58090	129310	14605	—
Sphinx ligustri . . .	29455	22453	—	7140	—	30707	—	41253	—	90653	—	47384	—	—	—
Deilephila euphorbiae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	79054	—	10825 (vor Schlüpfen)	—	19674	3559
2. Bombycimorpha.															
Fam. Bombycidae:															
Bombyx mori . . .	—	—	—	11321	—	7156	—	21840	—	19563	—	7163	—	7663	—
" " . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1780 (mit Eiern)	10337	—	—
Rasse Giallo Sferico Biome	—	21921	141222	12265	85800	7150	55986	21788	125160	19955	107209	8635	50143	5857	—
Fam. Saturniidae:															
Saturnia pavonia ♀ .	—	—	—	6200	41298	11955	85521	42410	246260	40208	115575	—	—	13178	—
" " ♂ .	—	—	—	—	—	—	—	20885	69790	24615	73586	—	—	—	—
Fam. Lasicampidae:															
Malacosoma neustria	—	—	—	9320	—	7863	—	23598	—	22734	—	—	—	—	—
Fam. Lymantriidae:															
Leucoma salicis (Freilandexemplare) . .	—	—	—	11223	—	11313	55488	11675	—	10444	—	—	—	—	6357
Lymantria dispar . .	16588	22710	152314	11243	—	6469	—	39639	241970	27500	121155	4885	—	5272	—
Lymantria monacha .	10375	26318	—	9317	—	9706	—	15009	—	17916	—	7780	—	6855	—
Fam. Notodontidae:															
Harpyia vinula . . .	—	—	—	—	—	15690	—	38325	—	35878	101753	—	—	—	—
Phalera bucephala (Freilandexemplare)	—	15180	86336	—	—	13400	79546	50200	193270	57121	166530	—	—	—	—

und im Lichte, ein anderer im Dunkeln und ohne Nahrung gehalten wurde, ließ sich nach 1 Tag nicht erkennen. Erst mit dem Beginn der Aufnahme größerer Nahrungsmengen und des Wachstums sinkt die Katalase und erreicht ihr Minimum gewöhnlich nach der vorletzten Häutung. Am Ende der Larvenperiode tritt dann wieder eine rapide Zunahme auf, die ihr Maximum meist in der Puppe erreicht. In denjenigen Puppen, die den Winter überdauern, hält sich der Fermentgehalt längere Zeit auf dieser bedeutenden Höhe. Erst kurz vor dem Ausschlüpfen der Imagines setzt ein bedeutender Abfall ein.

Tabelle XXI.
Katalasegehalt der Blattwespen.

	Arge rosae		Cimbex femorata	
	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht
Nach 1. Häutung . .	28038	102250	—	—
„ 2. „ . .	27044	131556	6940	30704
„ 3. „ . .	16231	69303	4188	19450
„ 4. „ . .	20156	65245	1255	3655
Vor Verpuppen . . .	28713	135431	8273	29293
Puppe	38672	116710	4497	—

Tabelle XXII.
Katalasegehalt der Wespen, Bienen und Ameisen.

	Vespa vulgaris	Bienen, Arbeiter		Bienen, Drohnen		Camponotus ligniperd., Arbeiter		Camponotus ligniperd., Geschlechtstiere	
	1:1000	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht
Eier	1685	—	—	—	—	—	—	—	—
Jüngere Larven	6130	—	—	—	—	8766	45115	—	—
Mittlere Larven	—	12660	37484	—	—	—	—	—	—
Alte Larven	6853	13950	53203	—	—	6600	34702	—	—
Eben verpuppt	8150	7678	35466	—	—	—	—	—	—
Ältere Puppen	5690	5850	30155	4740	23380	5600	30234	♀ 5740	30790
Puppen kurz vor Schlüpfen	4915	4020	24155	—	—	—	—	—	—
Imag., eben geschlüpft .	—	8985	32849	3706	15103	—	—	geflügelt ♀ 7073 geflügelt ♂ 8250	16570 —
Imag., länger geschlüpft .	—	2615	7708	2944	10230	1526	4417	ungeflügelt ♀ 1210 ungeflügelt ♂ 1100	— —

Diejenigen Puppen aber, die noch in demselben Jahre schlüpfen, wie Lymantria dispar., L. monacha, Bombyx mori usw., lassen

sehr bald eine Abnahme erkennen. Diesen zuletzt skizzierten Verhältnissen schließen sich auch die Wespen, Bienen, Ameisen (Tabellen XXI und XXII) bei ihrer Entwicklung an.

Die geschlechtsreifen Imagines selbst sind sehr wenig aktiv.

Ähnliche Zustände gelten wahrscheinlich auch für die Dipteren (Tabelle XXIII). Nur lassen sich hier die Verhältnisse infolge des Mangels der Kenntnis über die jeweiligen Geschlechtszustände und des damit zusammenhängenden Fettkörpergehaltes noch nicht klar erkennen.

Tabelle XXIII.
Katalasegehalt der Dipteren.

Organismus	Larven		Puppen		Imagines	
	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht
Corethra pallida	9472	131373	—	—	—	—
Chironomus plumosus . .	4500	—	—	—	—	—
Tipula gigantea	12650	—	—	—	—	—
Bibio hortulanus	18017	—	—	—	—	—
Eristalis tenax	3222	—	5672	—	—	—
Musca bimaculata . . .	13987	—	53313	—	—	—
Musca domestica	39785	152660	42676	177930	5028 (lange geschlüpft)	—
Sarcophaga carnaria . .	2722	—	—	—	—	—
Acanthiptera inanis . . .	68438	206590	45425	149810	—	—
Blephariptera serrata . .	—	—	41300	110150	50584	181160

Aber nicht immer zeigen die Imagines so niedrige Konstanten. Umgekehrt verhielten sich die frisch geschlüpften Tagfalter (Vanessen, Tabelle XX) und Coleopteren (Tabelle XXIV). Bei ihnen sind aber die Geschlechtsorgane noch nicht voll entwickelt, ihr Hinterleib ist noch längere Zeit ganz mit Fettkörper erfüllt. Aber auch hier trat mit der Ausbildung der Geschlechtsprodukte und der damit zusammenhängenden Resorption des Fettkörpers eine Abnahme ein. Vanessa atalanta-Falter, die über 2 Monate lang frisch erhalten wurden, zeigten nach dieser Zeit deutlich eine Abnahme. Desgleichen gaben Coleopteren wie Chrysomela fastuosa, Carabus intricatus während der Eiablage bedeutend niedrigere Konstanten (Tabelle XXV).

Tabelle XXIV.

Katalasegehalt der Coleopteren.

Name	Larven		Puppen	Imagines	
	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	1:1000	Auf Trockengewicht
1. U. O. Adephaga.					
Fam. Carabeidae:					
Calosoma sycophanta . .	25620	68467	59188	14256	—
Carabus nemoralis					
Min.	—	—	—	13544	49413
Max.	—	—	—	50160	137610
Carabus intricatus					
Min.	—	—	—	34020	123390
Max.	—	—	—	81270	207590
Fam. Dytiscidae:					
Dyticus marginalis					
Min.	8097	48955	—	4181	14954
Max.	17629	145319	—	18519	66234
Acilius sulcatus	—	—	—	22031	96924
2. U. O. Polyphaga.					
2. Sektion.					
Fam. Hydrophilidae:					
Hydrophylus piceus					
Min.	—	—	—	7778	—
Max.	—	—	—	17781	—
Fam. Cantharidae:					
Cantharis fusca	—	—	—	16919	—
Fam. Coccinellidae:					
Anatis ocellata, Larv. . .	1989	—	2627	—	—
Coccinella septemp., Imag.	—	—	—	481	—
3. Sektion. Heteromera.					
Fam. Tenebrionidae:					
Tenebris molitor	78087	198645	78875	54977	154170
Blaps mortisaga	—	—	—	22451	57026
4. Sektion. Phytophaga.					
Fam. Cerambycidae:					
Clytus arcuatus	2690	8931	—	—	—
Leptura rubra	—	—	—	2716	—
Fam. Chrysomelidae:					
Chrysomela fastuosa					
Min.	—	—	—	28805	89207
Max.	—	—	—	91050	281840
6. Sektion. Lamellicornidae.					
Fam. Scarabicidae:					
Geotrupes stercorarius . .	—	—	—	51694	—
Melolontha vulgaris . . .	2768	16428	—	—	—
Rhizotrogus solstitialis . .	—	—	—	37865	103371
Cetonia aurata	25275	—	—	36400	101120
Oryctes nasicornis	33648	129500	43338	55981	142192

Am besten ließ sich aber eine Abhängigkeit der Katalase von der durch die Ausbildung der Geschlechtsprodukte bedingten

Abnahme des Fettkörpers bei den Wasserkäfern Hydrophilus piceus und Dyticus marginalis (Tabelle XXVI) wahrnehmen.

Tabelle XXV.

Änderung des Katalasegehalts der Coleopteren mit der Reifung der Geschlechtsprodukte.

Name	Vor der Eiablage		Nach der Eiablage	
	1:1000	Auf Trockengewicht	1:1000	Auf Trockengewicht
Astilbus caniculatus . . .	77013	153860	29294	58588
Chrysomela fastuosa . .	91050	281840	28805	89207
Carabus intricatus . . .	81020	207590	34020	123390
Carabus nemoralis . . .	50160	137610	13544	49413

Tabelle XXVI.

Katalasegehalt von Dyticus marginalis während verschiedener Perioden.

Art des Geschlechts	Datum	1:1000	Auf Trockengewicht
♂ und ♀ . . .	26. V. 12	5356	19156
♂	25. XII. 12	18519	66234
♂ und ♀ . . .	28. XII. 12	14954	53490
♂	11. VI. 13	7475	26734
♂	17. VI. 13	4181	14954
♀	11. VI. 13	5293	18931
♂ und ♀ . . .	10. VII. 13	10307	46864

Blunck[1]) fand ja speziell an Dyticus, daß diese Tiere mehrere Male im Jahre der Eiablage obliegen. Ganz analog diesen Perioden war auch eine Abnahme im Katalasegehalt nachweisbar. Leider gelang es nicht, bei allen untersuchten Coleopteren, wie Geotrupes silvaticus, Blaps mortisaga usw., eine geringere Aktivität festzustellen. Es ist aber ziemlich schwierig, die Verhältnisse kontrollieren zu können. Es kommt selbstverständlich auf die jeweiligen Reifezustände an, unter denen die Tiere untersucht wurden. Man kann ja nie genau sagen, wie weit die Reife der Geschlechtsprodukte bei den einzelnen Exemplaren gediehen ist. Dabei ist ferner noch zu berücksichtigen, daß besonders günstige Lebensbedingungen und damit zusammenhängend sehr lebhafte Stoffwechselvorgänge ev. kompensatorisch wirken können. Einen wesentlichen Stützpunkt für die Annahme einer Abhängigkeit der Katalase von der Ausbildung

[1]) Hans Blunck, Zeitschr. f. wissensch. Zoologie **104**, 157, 1913.

der Geschlechtsprodukte bei den Insekten gibt noch ein merkwürdiger Befund ab. Es gelang einmal bei einer kurz vor dem Schlüpfen stehenden Puppe von Bombyx mori, in dieser schon Eier nachzuweisen. Und diese zeigte nun eine auffällig niedrige katalytische Wirkung. Von diesem Gesichtspunkt aus lassen sich auch die Verhältnisse bei den Puppen von Lymantria dispar, L. monacha, Bombyx mori usw. und den Hymenopteren erklären. Infolge des kurzen Ruhestadiums gehen hier die Umschmelzungen innerhalb 2 bis 4 Wochen vor sich. Es wird dabei schon zeitig der Fettkörper auf Kosten der heranreifenden Geschlechtsprodukte zum großen Teil resorbiert. Die Falter schlüpfen ja als geschlechtsreife Tiere, die nach wenig Tagen, selbst Stunden schon Eier ablegen. Und so ist zu erwarten, daß schon kurze Zeit nach der Verpuppung sich eine Abnahme im Katalasegehalt bemerkbar macht. Bei denjenigen Puppen aber, die den Winter überdauern, erfolgen die Umsetzungen langsamer, der hohe Katalasegehalt erhält sich noch lange Zeit, und erst wenn die Reifung vor dem Schlüpfen eintritt, nimmt er auch hier rapid ab.

Vielleicht sind auch die unregelmäßigen Werte bei den Schnecken, z. B. bei Limnaea stagnalis (Tabelle XXVII) durch die Geschlechtszustände bedingt. Die Tiere laichen ja zu ganz beliebigen Zeiten das ganze Jahr über, und es könnte möglich sein, daß analog wie bei den Insekten die Schnecken bei jeder Reifung der Geschlechtsprodukte ein Minimum zeigen.

Tabelle XXVII.

Schwankungen der Werte von Limnaea stagnalis.

Limnaea stagnalis	Datum	1 : 1000	Auf Trockengewicht	Trockengewicht %
Ganze Tiere	1. XII. 12	2497	13404	18,63
„ „	14. XII.	8194	44973	18,22
„ „	16. XII.	972	5580	17,42
„ „	16. XII.	6847	32466	21,09
„ „	4. VI. 13	1576	10161	15,31
„ „	4. VI.	1784	11506	15,31
„ „	4. VI.	3118	16506	15,31

Ein weiteres interessantes Verhalten wäre hier noch an den Geschlechtstieren von Camponotus zu erwähnen (Tabelle XXII).

Die geflügelten männlichen und weiblichen Tiere sind, bevor sie den Hochzeitsflug antreten, ziemlich reich an Katalase, fängt man sie aber danach ein, so zeigen sie eine bedeutend geringere katalytische Wirkung. Daß diese Abnahme in diesem Falle aber kaum in einer Reifung der Geschlechtsprodukte zu suchen ist, geht daraus hervor, daß es noch längere Zeit dauert, ehe die Tiere Eier ablegen. Es könnte hierbei vielmehr ein anderer Faktor in Betracht kommen, nämlich die Änderung im Heliotropismus. Wenn sich die Tiere zum Hochzeitsfluge anschicken, sind sie stark positiv, nach dem Fluge dagegen negativ heliotropisch. Nach der Hypothese von W. Ostwald soll nun der Heliotropismus eine Art Regulationsmechanismus darstellen, und zwar soll er abhängig sein von dem Gehalt an Katalase und Oxydase. Die Tiere werden positiv heliotropisch, um ihren Überschuß an Katalase loszuwerden, negativ heliotropisch, um wieder ihren notwendigen Grad von Katalase herzustellen.

Daß aber andere Verhältnisse hier vorliegen, zeigt die Abnahme nach dem Abwerfen der Flügel. Ohne daß die Tiere ihren Hochzeitsflug angetreten haben, nehmen sie in der Gefangenschaft, nachdem sie die Flügel verloren haben, bedeutend an Katalase ab. Untersuchungen von Wheeler u. a. haben nun gezeigt, daß das Abwerfen resp. künstliche Entfernen der Flügel große Umwälzungen in den biologischen Verhältnissen bei den Ameisen und Termiten bewirkt. Dabei wird wahrscheinlich auch die Katalase in Mitleidenschaft gezogen.

Ein Unterschied zwischen ♂ und ♀ konnte fast nie festgestellt werden. Nur bei Saturnia pavonia gelang es, eine Verschiedenheit der Wasserstoffsuperoxyd zersetzenden Kraft in den männlichen und weiblichen Extrakten nachzuweisen, die sich von der letzten Häutung an bemerkbar machte. Die ♀ sind ungefähr doppelt so aktiv als die ♂. Schon Dewitz macht auf einen Unterschied der ♂ und ♀ Puppen bei Saturnia pyri aufmerksam; er fand, daß die ♀ 2 bis 3 mal mehr Sauerstoff als die ♂ entwickeln. Dieses verschiedene Verhalten ist wahrscheinlich auch durch den verschiedenen Fettkörpergehalt bedingt. Bei dieser Familie ist ja auch der Unterschied der Geschlechter besonders stark ausgeprägt. Die ♂ Puppen sind relativ klein und besitzen einen spitzen Hinterleib, die ♀ sind

dagegen größer und zeichnen sich durch den breiten Hinterleib aus. Ganz entsprechend ist nun auch der Fettkörper ausgebildet. Die ♀ haben eine relativ große Fettmenge und sind sehr aktiv, die ♂ dagegen weisen einen kleinen Fettkörper auf und haben auch eine geringe katalytische Wirkung.

Die Parallelität zwischen dem Fettgewebe und dem Katalasegehalt bei den Insekten ist recht auffällig. Schon Liebermann macht 1904 auf die besondere katalytische Wirkung des Schweine- und Rinderfettes aufmerksam. Und auch Euler (1905) glaubt, daß den lipolytischen Extrakten vorzüglich die Eigenschaft zukommt, Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen. Er stellt die Organe zusammen, in denen die Katalase nachgewiesen wurde und in besonders starker Konzentration vorkommt, und zeigt, daß überall, wo Fett gebildet bzw. umgesetzt wird, Katalase zu finden ist. Deshalb aber eine direkte Beziehung zwischen der Katalase und der lipolytischen Kraft der Extrakte anzunehmen, ist doch wohl zu weit gegangen. Daß z. B. die Katalase an den Fettkügelchen haftet, ist doch sehr begreiflich, da sie infolge ihrer Oberfläche ein gutes Adsorptionsmedium abgeben. Haften doch auch Eiweißstoffe an ihnen. Auch das Vorkommen von Lipasen in der Milch ist noch gar nicht so sicher bewiesen. Jedenfalls gehen darüber die Meinungen der verschiedenen Autoren weit auseinander. Und was das fettspaltende Vermögen des Blutes anbetrifft, so ist es doch sehr gering. Und doch ist die Parallelität zwischen dem Fettgewebe und dem Katalasegehalt bei den Insekten sehr auffällig. Als zufällig kann man hier diese Beziehungen kaum bezeichnen. Es ist aber dabei auch zu berücksichtigen, daß z. B. während des Puppenstadiums und während der Abnahme des Fettkörpers durch die Geschlechtsreife noch ganz gewaltige chemische Vorgänge vor sich gehen, die hierbei doch sicher auch in Betracht kommen. Auffällig ist doch auch der Befund von Delano, der, wie schon erwähnt, an Rizinussamen nachweisen konnte, daß zeitlich mit dem Verschwinden des Fettes auch ein Sinken der Katalase parallel geht. Aber auch hier finden gerade während dieser Periode noch ganz energische chemische Umsetzungen statt. Dazu kommt noch, daß besonders fettarme Organismen wie Asseln und Julus unilineatus im Gegensatz zu Lithobius sehr wenig aktiv sind.

Glykogen und Fett, beide hervorragende Speichersubstanzen im Organismus, repräsentieren einen gewissen Energievorrat, und beide lassen auch eine gewisse Beziehung zur Katalase erkennen.

Loew vermutet, daß bei der Glykogen- und Fettumwandlung eine große Menge Hyperoxyd sich bildet, die einen entsprechenden Katalasegehalt verursacht. Es wäre dies ja eine recht plausible Erklärung; nur sind dies alles Vermutungen, ein experimenteller Nachweis ist ja dafür nicht erbracht worden. Bevor man nicht erst die Stoffwechselvorgänge im Organismus besser kennt, bevor man nicht genau weiß, welche Stoffe, ob Kohlenhydrate, Fette oder Eiweißkörper zu den verschiedenen Zeiten umgesetzt und gebildet werden, bevor man nicht auch das qualitative und quantitative Vorkommen der anderen Enzyme festgestellt hat, wird es kaum gelingen, einen vollkommenen Aufschluß über die biologische Bedeutung der Katalase zu erlangen. Immerhin zeigen diese Untersuchungen eine Menge Anhaltspunkte, die für gesetzmäßige Beziehungen des Katalasegehaltes und der Stoffwechselprozesse sprechen.

III. Kapitel.
Reaktionskinetische Untersuchungen.

Wie schon erwähnt, wurden die Versuche zum größten Teile im Vakuum und unter stetigem Schütteln ausgeführt. Die in den Tabellen I bis XXVII angegebenen Werte beziehen sich alle auf Schüttelversuche. Es wurden auch Versuche ohne Schütteln mit ausgeführt.

Der Grund für die so gewählte Versuchsanordnung ergibt sich aus den neueren Untersuchungen von Steche und von Waentig: „Über die Kinetik der fermentativen Hydroperoxydzersetzung“. Nach den Arbeiten früherer Autoren herrschte allgemein die Auffassung, daß die Wasserstoffsuperoxydzersetzung durch organische Gewebe nach dem Schema einer Reaktion I. Ordnung erfolge und sich eng an den von Bredig und seinen Schülern studierten Reaktionsverlauf der Platinkatalyse anschließe. Demgegenüber machten Steche und Waentig die Beobachtung, daß die nach der Reaktionsgleichung erster Ordnung berechneten Konstanten während der Reaktion ständig fielen, und daß sie nicht, wie besonders

Senter unter ganz bestimmten Bedingungen an der Blutkatalase fand, unter den gleichen Versuchsbedingungen während aller Phasen gleichblieben. Die Ursachen für diese auffallenden Abweichungen konnten verschiedene sein. Eine Reinigung der Fermentlösungen, die Annahme einer Oxydation des Fermentes durch das Wasserstoffsuperoxyd ergaben keine Anhaltspunkte, die geeignet waren, einen solchen Gang völlig zu erklären. Einen Hinweis, in welcher Richtung die Erklärung für das Auftreten des absteigenden Ganges zu suchen war, gab erst der Einfluß gelöster Gase.

Eine Sonderstellung nimmt die Kohlensäure ein, da sie H-Ionen liefert, die bekanntlich schädigend wirken. Sättigung rief hier eine starke Aktivitätsabnahme und auch einen ungewöhnlich starken Gang hervor. Schon die im gewöhnlichen destillierten Wasser enthaltene CO_2 macht sich schädigend bemerkbar; es wurde deshalb immer mit CO_2-freiem Wasser gearbeitet. Die Wirkung anderer gelöster Gase und die theoretischen Vorstellungen über die Vorgänge bei der H_2O_2-Zersetzung führten dann Steche und Waentig zu der Annahme, daß die H_2O_2-Katalyse durch die tierischen und pflanzlichen Extrakte als eine Adsorptionskatalyse aufzufassen sei, und daß die Ursache des absteigenden Ganges während der Reaktion in der durch die Fermentteilchen bewirkten Adsorption des Sauerstoffs gesucht werden müsse. In der kolloidalen Fermentlösung, die als sog. mikroheterogenes System zu denken ist, erfolgt die H_2O_2-Zersetzung an der Oberfläche der betreffenden Fermentteilchen. An den Stellen nun, an denen die Zersetzung vor sich geht, nimmt die Konzentration des H_2O_2 ständig ab; neues H_2O_2 muß entsprechend dem Konzentrationsgefälle herandiffundieren. Der zweite, chemische Vorgang, die H_2O_2-Zersetzung selbst, geht mit unmeßbarer Geschwindigkeit vor sich. Wir messen also in den meisten Fällen, wie die Untersuchungen von Nernst und Brunner im makroheterogenen System ergaben, nur die Diffusion; und die gemessene Geschwindigkeit ist bei hinreichender Durchschüttelung, wenn man auf die überall gleichmäßige Konzentration der reagierenden Stoffe sieht, die einer Reaktion erster Ordnung. Im kolloidalen System erfolgt nun diese Durchrührung infolge der Brownschen Molekularbewegung von selbst. Anders gestalten sich aber nun die

Verhältnisse, wenn die entstehenden Reaktionsprodukte auf den Reaktionsverlauf einwirken. In unserem Falle wird nun, wie Steche und Waentig zeigen, durch die Fermentteilchen Sauerstoff adsorbiert. Entsprechend nun, wie sich der Sauerstoff darum anlagert, wird auch die Diffusion verzögert, die Zersetzungsgeschwindigkeit nimmt ab, und die Folge davon ist der absteigende Gang der Konstanten. Dazu kommt noch, daß auch das Wasserstoffsuperoxyd adsorbiert wird, so daß gewissermaßen zwischen dem Sauerstoff und dem H_2O_2 ein Wettkampf um die Fermentteilchen stattfindet. In diesem Falle kommt neben der spezifischen Adsorptionsfähigkeit auch noch die Konzentration der beteiligten Stoffe in Betracht. Je höher also die Konzentration eines Stoffes ist, um so mehr verdrängt er seinen Konkurrenten. Die Reaktionsgeschwindigkeit nimmt also um so mehr ab, je mehr das H_2O_2 infolge der Übersättigung der Lösung durch den sich entwickelnden Sauerstoff verdrängt wird.

Diese Adsorptionstheorie von Waentig und Steche ist vorzüglich geeignet, die kinetischen Eigentümlichkeiten der fermentativen Hydroperoxydzersetzung zu erklären.

Man kann die Richtigkeit der Ansicht, daß bei diesen Prozessen Adsorptionsvorgänge eine wichtige Rolle spielen, durch eine Versuchsanordnung erhärten, bei der nach Möglichkeit die Adsorption ausgeschaltet ist. Dies geschieht durch das Schütteln des Reaktionsgemisches im Vakuum. Der absteigende Gang wird dadurch fast durchweg verringert, sehr oft sogar aufgehoben und in vielen Fällen in einen aufsteigenden verwandelt.

Wenn ich hier auf die theoretische Seite genauer eingegangen bin, und wenn ich im folgenden eine größere Anzahl von Tabellen anführen werde, als ursprünglich beabsichtigt war, so geschieht dies deshalb, weil in jüngster Zeit eine Arbeit von Michaelis und Pechstein[1]) erschienen ist, in der die Bedeutung der Adsorption in Zweifel gezogen wird, da die Verfasser bei Leberextrakten keine Schüttelwirkung feststellen konnten. Gestützt auf viele Hunderte von Versuchen kann ich die Verbesserung, resp. Aufhebung des Ganges durch das Schütteln im Vakuum nur bestätigen und der Auffassung der Reaktion als Adsorptionskatalyse nur zustimmen. Bei den zahlreichen Versuchen vorliegender Arbeit hat sich die Schüttel-

[1]) Michaelis und Pechstein, diese Zeitschr. 1914.

Tabelle XXVIII.

Einfluß des Schüttelns auf den Reaktionsverlauf der Lepidopteren-Katalase.

20. V. 1912.	7. VII. 1912.	15. VII. 1912.	27. VI. 1912.	9. VII. 1912.
Limantria disp. (Raup.).	Lymantria dispar (Pupp.).	Lymantria mon. (Pupp.).	Vanessa atalanta.	Bombyx mori.
8 Raup. = 3,915 g; mit 97,88 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).	9 ♀ Pupp. = 3,512 g; mit 87,8 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).	14 ♀ Pupp. = 6,129 g; mit 153,2 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).	26 Raup. = 5,078 g; mit 126,95 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).	2 Imag. = 0,866 g; mit 21,65 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).
Filtrat: Bräunlich, trübe, neutral.	Filtrat: Bräunlich, trübe neutral.	Filtrat: Schwärzlich, neutral.	Filtrat: Dunkel, trübe, neutral.	Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.
2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 3125).	1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 6250).	2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 3125).	1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 6250).	2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (1 : 3125).

20. V. 1912 — Geschüttelt 9h 51′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	11,65		
4′	8,00	5441	17013
9′	4,25	5494	
15′	2,00	5456	

Desgl. nicht geschüttelt 9h 31′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	12,49		
5′	7,70	5252	16728
10′	4,77	4159	
15′	3,18	3522	
20′	2,25	3005	
31′	1,27	2267	

7. VII. 1912 — Geschüttelt 8h 28′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	16,75		
3′30″	15,90	1131	7069
9′30″	13,98	1137	
15′30″	11,95	1120	
29′30″	10,00	1105	

Desgl. nicht geschüttelt 4h 14′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	14,00		
3′30″	13,37	1000	6250
8′30″	12,19	803	
14′30″	11,11	672	
21′30″	10,00	653	

15. VII. 1912 — Geschüttelt 10h 09′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,60		
3′30″	10,10	4803	15009
6′30″	6,95	5411	
10′30″	4,15	5579	
16′30″	1,80	6046	

Desgl. nicht geschüttelt 3h 14′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,60		
3′30″	10,05	4910	15344
6′30″	7,50	4237	
10′30″	5,15	4081	
16′30″	3,05	3792	

27. VI. 1912 — Geschüttelt 2h 37′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	10,60		
3′30″	8,20	5575	34844
8′30″	4,40	5407	
14′30″	2,15	5183	
21′30″	1,00	4749	

Desgl. nicht geschüttelt 3h 01′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	10,20		
3′30″	8,20	4740	29625
8′30″	4,98	4332	
14′30″	2,80	4168	
21′30″	1,60	3472	

9. VII. 1912 — Geschüttelt 7h 47′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
2′30″	16,80		
4′30″	15,00	2452	7663
9′30″	11,15	2577	
15′30″	7,75	2628	
22′30″	5,25	2824	

Desgl. nicht geschüttelt 11h 55′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	13,68		
3′30″	12,15	2528	7900
6′30″	11,00	1436	
10′30″	9,80	1254	
16′30″	8,35	1159	

methode im Vakuum ausgezeichnet bewährt. Es gelang mit ihrer Hilfe bedeutend bessere und mehr übereinstimmende Werte zu erhalten, als bei den oft gleichzeitig unternommenen Versuchen, bei denen nicht geschüttelt wurde.

Im folgenden möchte ich zunächst über das Verhalten der verschiedensten Extrakte bei Schüttelversuchen und solchen, wo nicht geschüttelt wurde, berichten, um dann allgemein den Reaktionsverlauf bei den verschiedenen Tiergruppen zu besprechen. Es wurden dabei die Versuche nach Möglichkeit so gewählt, daß sie eine Ergänzung zu den im physiologischen Teile angeführten Werten bilden.

Was nun den Einfluß des Schüttelns anbelangt, so sind besonders die Insekten dafür charakteristisch, da sie trotz des Schüttels im großen und ganzen zu absteigenden Gängen neigen. Es läßt sich aber durchweg konstatieren, daß das Schütteln im Vakuum von großem Einfluß auf den Reaktionsverlauf ist. In den Tabellen XXVIII bis XXX sind eine Menge charakteristischer Beispiele von den Lepidopteren, Coleopteren und anderen Insekten zusammengestellt.

Tabelle XXIX (siehe Tabelle I).

Einfluß des Schüttelns auf den Reaktionsverlauf der Coleopteren-Katalase.

13. VI. 1912. Calosoma sycophanta, Imag. 2 Tiere = 1,601 g; mit 40,03 ccm H_2O verd. (1 : 25). Filtrat: Dunkel, trübe, neutral. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 6250).				14. VII. 1912. Cantharis, Imag. 15 Tiere = 0,607 g; mit 15,18 ccm H_2O verd. (1 : 25). Filtrat: Gelblich, trübe, neutral. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (1 : 6250).				4. VII. 1912. Donacia. 33 Tiere = 0,931 g; mit 23,28 ccm H_2O verd. (1 : 25). Filtrat: Gelblich, trübe, neutral. 2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 3125).			
Geschüttelt 10^h 15′.				Geschüttelt 9^h 37′.				Geschüttelt 8^h 12′.			
t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000	t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000	t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	13,25	3728	23300	1′ 30″	13,00	2757	17231	1′ 30″	18,10	2543	7947
3′	11,16	4372		3′ 30″	11,45	3167		3′ 30″	16,10	2238	
9′	6,10	4338		6′ 30″	9,20	3282		6′ 30″	13,80	2228	
15′	3,35	4480		10′ 30″	6,80	3317		10′ 30″	11,84	2176	
20′	2,00			16′ 30″	4,30			16′ 30″	7,90		
Desgl. nicht geschüttelt 8^h 10′.				Desgl. nicht geschüttelt 11^h 11′.				Desgl. nicht geschüttelt 10^h 59″.			
1′	13,40	3991	24944	1′ 30″	12,65	2839	17743	1′ 30″	13,70	2697	8428
3′	11,15	3633		3′ 30″	11,10	2797		3′ 30″	12,10	1849	
9′	6,75	3348		6′ 30″	9,15	2379		7′ 30″	10,30	1616	
15′	4,25	2589		10′ 30″	7,35	2367		10′ 30″	8,95	1606	
22′	2,80	2296		16′ 30″	5,30			16′ 30″	7,65		
32′	1,65										

Tabelle XXX.

Einfluß des Schüttelns auf den Reaktionsverlauf der Katalase anderer Insekten.

13. VII. 1912.

Bombus lapidarius, Imag.

2 Tiere = 0,338 g; mit 8,45 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).

Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 6250).

Geschüttelt 3h 30″.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,72		
		2959	18494
3′30″	11,10		
		2876	
6′30″	9,10		
		2849	
10′30″	7,00		
		2807	
16′30″	4,75		

Desgl. nicht geschüttelt 4h 01′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,80		
		2822	17638
3′30″	11,25		
		2208	
6′30″	9,65		
		2183	
10′30″	7,90		
		2237	
16′30″	5,80		

8. VII. 1912.

21 Larven von Musca bimaculata.

Gewicht = 2,90 g; mit 72,5 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).

Filtrat: Bräunlich, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (1 : 6250).

Geschüttelt 10h 15′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	13,30		
		2415	15094
3′30″	11,90		
		2518	
6′30″	10,00		
		2423	
10′30″	8,00		
		2328	
16′30″	5,80		

Desgl. nicht geschüttelt 11h 22′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	13,80		
		2765	17281
3′30″	12,15		
		1705	
6′30″	10,80		
		1624	
10′30″	9,30		
		1442	
16′30″	7,62		

27. VI. 1912.

Panorpa communis, Imag.

5 Tiere = 0,175 g; mit 8,75 ccm H_2O verdünnt (1 : 50).

Filtrat: Gelblich, klar, neutral.

2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 6250).

Geschüttelt 2h 4′

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,75		
		3108	19425
3′30″	11,05		
		2806	
8′30″	8,00		
		2778	
14′30″	5,45		
		2122	
28′30″	2,75		

Desgl. nicht geschüttelt 4h 16′

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
2′	11,80		
		3347	20921
4′	10,35		
		2676	
11′	7,90		
		2299	
17′	5,75		
		1614	
27′	3,15		

27. VI. 1912.

Agrion puella, Imag.

8 Tiere = 1,394 g; mit 34,85 ccm H_2O verd. (1 : 25).

Filtrat: Gelblich, klar, neutral.

2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 3125).

Geschüttelt 10h 25′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,38		
		318	994
3′30″	12,20		
		326	
8′30″	11,75		
		379	
14′30″	11,15		
		373	
21′30″	10,50		

Desgl. nicht geschüttelt 3h 05′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,40		
		358	1119
3′30″	12,20		
		264	
7′30″	11,88		
		178	
14′30″	11,65		
		118	
22′30″	11,40		

26. VII. 1912.

Decticus verrucivorus, Imag.

Darm von 3 Tieren = 0,695 g; mit 17,38 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).

Filtrat: Rötlich-gelb, trübe, neutral.

2 ccm + 250 $^n/_{400}H_2O_2$ (= 1 : 3125).

Geschüttelt 4h 10′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	7,26		
		14346	44831
3′30″	3,75		
		12790	
6′30″	1,55		
		10809	
9′30″	0,75		

Desgl. nicht geschüttelt 4h 45′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	10,50		
		13418	41931
3′30″	5,65		
		7378	
6′30″	3,40		
		4010	
10′30″	2,35		
		5495	
16′30″	1,10		

Die Lepidopterenkatalase, speziell die von Lymantria dispar, zeigt geschüttelt eine recht gute Konstanz, die Versuche ohne Schütteln fallen dabei ziemlich schnell, aber doch regelmäßig ab. Die Lymantria monacha steigt geschüttelt langsam auf; die Versuche, bei denen nicht geschüttelt wurde, sinken dementsprechend langsamer als bei Lymantria dispar ab. So zeigen beide Versuche einen Gang, der aber bei dem ungeschüttelten bedeutend stärker ist als bei geschüttelten. Besonders auffällig ist der plötzliche Abfall der Werte von Bombyx mori, einem Versuch ohne Schütteln. Ganz ähnliche Verhältnisse zeigen die Coleopteren und die übrigen Insekten. Immer wieder lassen die Schüttelversuche entweder eine gute Konstanz (Bombus lapidarius, Musca bimaculata, Agrion puella) oder ein nur geringes Aufsteigen (Calosoma sycophanta, Cantharis) oder auch einen abfallenden Gang erkennen (Donacia, Panorpa, Decticus), der aber im Vergleich zu den Versuchen ohne Schütteln sich in viel engeren Grenzen bewegt.

Auffällig ist besonders noch, daß die Versuche ohne Schütteln zu einem großen Teile höhere Anfangskonstanten zeigen als die geschüttelten. In Tabelle XXXI finden wir Beispiele in dieser Hinsicht zusammengestellt. Gewöhnlich sinken dann aber gerade diese Versuche auch sehr rasch ab, während die Versuche ohne Schütteln, die mit niedrigeren Anfangswerten als die geschüttelten beginnen (Tabelle XXXII), keine so steil abfallenden Gänge aufweisen.

Eine Beziehung zur absoluten Höhe der jeweiligen Aktivität bei den verschiedenen Tiergruppen läßt sich nicht erkennen. Es lag ja die Vermutung nahe, daß besonders schwache Fermente, deren Adsorptionsfähigkeit also gering ist, einen aufsteigenden, solche von großer katalytischer Energie die Tendenz zu fallenden Gängen ergeben möchten. Bei den Extrakten der verschiedensten Herkunft läßt sich aber ein derartiges Verhalten nicht bemerken. Wohl zeigen einige sehr schwache Enzyme, wie die von Agrion puella, Sarcophaga, Cetonia-Lymphe usw., auf Grund des Schüttelns aufsteigende Konstanten, aber andererseits existieren auch sehr wenig aktive Extrakte (Leucoma-Puppen), die während der Reaktion fallende K-Werte ergeben. Das gleiche Verhalten finden wir auch bei den Fermenten mit hoher Aktivität. Auch hier gibt

Tabelle XXXI.

Tabellen mit höherem Anfangswert der ungeschüttelten Versuche.

27. VI. 1912.

Sarcophaga carnaria, Larven.

60 Larven = 5,766 g; mit 144,15 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).

Filtrat: Grau, trübe, neutral.

2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 3125).

Geschüttelt 3^h 18′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,70	872	2725
3′30″	12,20	931	
8′30″	10,96	944	
14′30″	9,62	991	
21′30″	8,20		

Desgl. nicht geschüttelt 4^h 22′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,50	1050	3281
3′30″	11,91	988	
8′30″	10,63	813	
14′30″	9,50	800	
21′30″	8,35		

16. VI. 1912.

Cetonia aurata, Larven, Lymphe.

Von 4 Larven Lymphe 1 : 50 verdünnt.

Filtrat: Weißlich-grau; durch H_2O rot.

2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 6250).

Geschüttelt 3^h 10′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,90	999	6254
3′30″	12,32	1184	
8′30″	10,75	1391	
14′30″	8,87	1381	
21′30″	7,10		

Desgl. nicht geschüttelt 10^h 26′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,95	1474	9212
3′30″	12,10	1280	
8′30″	10,50	1084	
14′30″	9,04	681	
21′30″	7,85		

15. VI. 1912.

Geotrupes silvaticus, Imag.

3 Tiere = 1,213 g; mit 60,65 ccm H_2O verd. (1 : 50). Diese 1 : 5 verdünnt.

Filtrat: Hellgrau, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 62500).

Geschüttelt 10^h 36′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,30	809	60563
3′30″	11,85	841	
9′30″	10,50	820	
14′30″	9,60	978	
21′30″	8,20		

Desgl. nicht geschüttelt 10^h 46′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	15,95	1046	65375
3′30″	15,20	998	
8′30″	13,55	801	
14′30″	12,13	661	
21′30″	10,67		

13. VII. 1912.

Carabus nemoralis, Imag.

1 Tier = 0,278 g; mit 6,95 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).

Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 6250).

Geschüttelt 2^h 25′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	15,90	2167	13544
3′30″	14,39	2038	
6′30″	12,50	2039	
10′30″	10,36	1964	
16′30″	7,90		

Desgl. nicht geschüttelt 3^h 59′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	12,60	2753	17106
3′30″	11,10	1921	
7′30″	9,30	1560	
10′30″	8,35	1540	
16′30″	6,75		

27. VIII. 1912.

Cimbex femorata, Puppe.

1 Puppe = 0,732 g; mit 18,3 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).

Filtrat: Gelb, trübe, neutral.

2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (1 : 3125).

Geschüttelt 9^h 35′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	10,90	1439	4497
3′30″	10,20	1494	
6′30″	9,20	1520	
10′30″	8,00	1615	
16′30″	6,40		

Desgl. nicht geschüttelt 11^h 05′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	11,05	1655	
3′30″	10,25	1628	
6′30″	9,15	1458	
10′30″	8,00	1393	
16′30″	6,60		

es deren, die trotz ihrer großen katalytischen Energie (Lymantria monacha-Puppen usw.) aufsteigende Gänge erkennen lassen.

Tabelle XXXII.

Tabellen mit niederem Anfangswert der ungeschüttelten Versuche.

23. VII. 1912.	27. VII. 1912.	14. VI. 1912.
Leucoma salicis, Puppen.	Decticus verrucivorus 1 ♀.	Liogryllus campestris, Imag.
5 Pupp. = 3,05 g; mit 76,25 ccm H_2O verd. (1 : 25).	1 ♀ = 2,812 g; mit 70,30 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).	1 Tier = 1,065 g; mit 53,50 ccm H_2O verd. (1 : 50).
Filtrat: Gelb, trübe, neutral.	Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.	Filtrat: Opalisierend trübe, neutral.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 6250).	1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 6250).	1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 12500).

Geschüttelt

23. VII. 1912: Geschüttelt 11h 55′. t	KMnO₄	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	13,50		
3′ 30″	12,50	1671	10444
6′ 30″	11,14	1667	
10′ 30″	9,65	1559	
16′ 30″	7,80	1541	

27. VII. 1912: Geschüttelt 10h 10′. t	KMnO₄	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	12,73		
3′ 30″	10,40	4390	27437
6′ 30″	7,70	4351	
10′ 30″	5,20	4262	
16′ 30″	2,93	4152	

14. VI. 1912: Geschüttelt 4h 51′. t	KMnO₄	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	12,57		
3′ 30″	11,25	2410	30125
8′ 30″	8,70	2433	
14′ 30″	6,30	2170	
21′ 30″	4,20	2370	

Desgl. nicht geschüttelt

23. VII. 1912: Desgl. nicht geschüttelt 12h 23′. t	KMnO₄	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	14,20		
3′ 30″	13,35	1341	8381
6′ 30″	12,25	1245	
10′ 30″	11,06	1112	
18′ 30″	9,90	802	

27. VII. 1912: Desgl. nicht geschüttelt 10h 50′. t	KMnO₄	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	11,74		
3′ 30″	9,60	4370	27125
6′ 30″	7,10	4367	
10′ 30″	4,80	4281	
16′ 30″	2,85	3777	

14. VI. 1912: Desgl. nicht geschüttelt 4h 37′. t	KMnO₄	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	13,00		
3′ 30″	11,98	1829	22863
8′ 30″	9,95	1591	
14′ 30″	8,00	1579	
21′ 30″	6,30	1482	

Daß eine Beziehung zwischen der absoluten Höhe der Aktivität und der Art der Gänge nicht zu bestehen braucht, lehrt schon eine einfache Überlegung. Die katalytische Wirkung ist ja bedingt durch die Zahl und die Adsorptionskraft der Fermentteilchen. Eine H_2O_2-Zersetzung von bestimmter Stärke kann nun bedingt sein durch viele Teilchen mit geringer Adsorption oder durch eine kleinere Zahl Fermentteilchen mit großer Adsorptionskraft. Im ersteren Falle hätten wir dann gute Konstanten oder aufsteigende Werte zu erwarten, während im letzteren Falle ein fallender Gang auftreten müßte.

Auch die Katalase aus anderen Tiergruppen läßt eine Einwirkung des Schütteln erkennen. Die Schnecken-Katalase (Tabelle XXXIII) z. B. gibt geschüttelt recht gute und aufsteigende Werte, während die Versuche ohne Schütteln wieder durch abfallende Gänge charakterisiert sind. Gerade letztere zeichnen

Tabelle XXXIII.

Einfluß des Schüttelns auf den Reaktionsverlauf der Schnecken-Katalase.

17. XII. 1913. Helix pomatia. Leber. Gew. 1,142 g; mit 28,55 ccm H_2O verdünnt (1:25). Filtrat: Braun, trübe, neutral. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250).	1 Tag später. 18. XII. 1913. Derselbe Extrakt. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250).	17. XII. 1913. Helix pomatia. Ganzes Tier. Gew. 3,012 g; mit 75,3 ccm H_2O verdünnt (1:25). Filtrat: Gelblich, trübe, neutral. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250).	Derselbe Extrakt. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250).

17. XII. 1913. Helix pomatia. Leber.

Geschüttelt 3^h 27′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	11,25		
3′30″	8,90	5088	31900
5′30″	6,80	5844	
8′30″	4,40	6302	
11′30″	2,75	6804	

Desgl. nicht geschüttelt 3^h 07′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	8,60		
3′30″	7,30	4559	28494
6′30″	5,60	3838	
9′30″	4,45	3328	
11′30″	3,90	2865	

1 Tag später. 18. XII. 1913. Derselbe Extrakt.

Geschüttelt 11^h 43′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
3′30″	7,03		
5′30″	5,60	4938	30863
7′30″	4,45	4992	
9′30″	3,50	5215	
11′30″	2,70	5635	

Desgl. nicht geschüttelt 3^h 31′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	11,15		
3′30″	9,00	4652	29075
6′30″	6,15	5512	
9′30″	4,85	3438	
12′30″	3,95	2971	

17. XII. 1913. Helix pomatia. Ganzes Tier.

Geschüttelt 5^h 18′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	13,71		
3′30″	13,14	922	5763
6′30″	11,90	1435	
10′30″	10,35	1515	
14′30″	8,40	2253	

Desgl. nicht geschüttelt 5^h 36′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	14,42		
3′30″	13,85	876	5475
6′30″	13,15	751	
10′30″	12,72	361	
14′30″	12,16	489	

Derselbe Extrakt.

Geschüttelt 5^h 40′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	13,50		
3′30″	12,67	1378	8553
6′30″	11,55	1340	
11′30″	9,56	1642	
14′30″	8,65	1600	

Desgl. nicht geschüttelt 6^h 25′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	14,70		
3′30″	13,69	1546	8663
6′30″	12,42	1407	
10′30″	11,30	1026	
14′30″	10,50	797	

sich oft noch durch große Unregelmäßigkeiten aus. Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir auch bei den Echinodermen, Actinien, Planarien, Muscheln (Tabelle XXXIV). Immer wieder läßt sich hier eine Verbesserung der Gänge durch das Schütteln beobachten. Alle diese Versuche weisen erneut darauf hin, daß zu einer Bewertung möglichst nur die Schüttelversuche heranzuziehen sind.

Was nun die Fermente der verschiedensten Herkunft betrifft, so zeigen sie ein recht wechselndes Verhalten. Die Actinien (Tabelle XXXV) sind im großen und ganzen durch eine sehr gute Konstanz charakterisiert. Vier Fünftel aller Versuche geben auffällig gleiche K-Werte. Unter den Echinodermen (Tabelle XXXVI) hat besonders Asterias die Tendenz zu aufsteigenden Gängen. Aber auch Strongylocentrotus und Cucumaria neigen dazu. Nur Extrakte mit hoher Konzentration wie der Strongylocentrotus-Darm von 22. V. 13 weisen hier einen größeren Abfall auf.

Tabelle XXXIV.

Einfluß des Schüttelns auf den Reaktionsverlauf der Actinien-, Echinodermen-, Muschel-Katalase.

14. II. 14. Actinia equina. Gew. 5,9294 g; mit 59,29 ccm H_2O verd. (1:10). Filtrat: Opalisierend trübe, neutral. 2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:1250).			
Geschüttelt 11^h 47′.			
t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	14,35		
3′	13,50	1326	1658
7′	11,35	2133	
11′	9,06	2447	
16′	6,50	2884	
Desgl. nicht geschüttelt 11^h 44′.			
1′	15,00		
3′	14,27	1083	1354
7′	12,80	1180	
11′	11,90	791	
16′	10,95	723	

14. II. 14. Asterias rubens. Darm. Gew. 1,742 g; mit 34,85 ccm H_2O verd. (1:20). Diese 1:10 verd. Filtrat: Rötlich-braun, trübe, neutral. 2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:50000).			
Geschüttelt 11^h 29′.			
t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	14,15		
3′	13,07	1724	86200
7′	11,00	1872	
11′	8,60	2672	
16′	5,85	3327	
Desgl. nicht geschüttelt 10^h 19′.			
1′	14,30		
3′	13,05	1987	99350
7′	11,15	1709	
11′	9,45	1796	
16′	7,95	1501	

17. II. 14. Anodonta. Ganzes Tier. Gew. 6,7449 g; mit 67,45 ccm H_2O verdünnt (1:10). Filtrat: Gelblich, trübe, neutral. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:2500).			
Geschüttelt 3^h 55′.			
t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	12,23		
3′	11,24	1833	4583
6′	9,85	1911	
10′	7,90	2395	
15′	6,00	2392	
Desgl. nicht geschüttelt 4^h 13′.			
1′	11,40		
3′	10,20	2256	5640
6′	8,85	2165	
10′	7,40	1943	
16′	5,70	1889	

Die niederen Würmer (Tabelle XXXVII) dagegen kennzeichnen sich recht oft durch fallende *K*-Werte. Seltener schon konnte hier einmal Konstanz beobachtet werden. Aufsteigende Gänge traten fast nie auf.

Demgegenüber stehen die höheren Würmer (Tabelle XXXVIII). Besonders die Versuche von Lumbricus und Spirographis zeigen auffällige Gleichmäßigkeit der *K*-Werte.

Tabelle XXXV.

Schüttelversuche von Coelenteraten.

28. XI. 12. Actinia equina. Gew. 5,226 g; mit 52,26 ccm H_2O verdünnt (1:10). Filtrat: Opalisierend trübe, neutral. 6 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 6:2500).	Parallelversuch dazu.
Geschüttelt 9h 15′.	Desgl. geschüttelt 9h 45′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′30″	13,81		
		1146	478
3′30″	13,10		
		1227	
10′30″	10,75		
		1296	
15′30″	9,26		

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′30″	13,80		
		1546	702
6′30″	11,55		
		1457	
10′30″	10,10		
		1442	
15′30″	8,55		

9. VI. 1913. Actinolobia dianthus. Gew. 5,353 g; mit 53,53 ccm H_2O verdünnt (1:10). Filtrat: Weißlich, trübe, schwach sauer. 4 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 4:2500).	7. VI. 1913. Hydra viridis. Gew. 0,0623 g; mit 1,246 ccm H_2O verdünnt (1:20). Filtrat: Gelblich, trübe, neutral. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:5000).
Geschüttelt 5h 17′.	Geschüttelt 2h 39′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′	13,55		
		2102	1314
3′	12,30		
		2018	
6′	10,70		
		2284	
10′	8,67		
		2200	
14′	7,08		

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′	17,15		
		603	3155
6′	16,00		
		629	
10′	15,10		
		534	
15′	14,20		

Unter den höheren Krebsen (Tabelle XXXIX) ist besonders Astacus ein recht schlechtes Ferment, das sehr große Unregelmäßigkeiten aufweist, während Pagurus wieder annehmbare Werte liefert.

Tabelle XXXVI.

Versuche von Echinodermen.

11. VII. 1913.

Asterias rubens. Ovarium.

Gew. 1,2683 g; mit 25,37 ccm H_2O verdünnt (1 : 20).
Filtrat: Goldgelb, fast klar, neutral.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:5000).

Geschüttelt 9h 13′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	14,00	2031	10155
3′	12,75	2147	
5′	10,75	2008	
9′	9,60		

Desgl. geschüttelt 10h 45′

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	13,58	1887	9435
3′	12,45	2011	
9′	9,43	2023	
12′	8,20		

22. V. 1913.

Strongylocentrotus. Leibenhöhlenfl.

Abfiltriert und direkt zur Untersuchung genommen.
Filtrat: Gelblich, klar, neutral.
5 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:50).

Geschüttelt 10h 07′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	14,15	1264	63
3′	13,35	1604	
6′	10,95	1934	
10′	10,00	2441	
15′	7,55		

Desgl. geschüttelt 11h 30′

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	14 35	1439	70
3′	13,42	1630	
6′	12,00	1818	
10′	10,15	2399	
16′	7,70		

22. V. 1913.

Strongylocentrotus. Darm.

Gew. 0,832 g; mit 20,8 ccm H_2O verdünnt (1:10).
Filtrat: Bräunlich, trübe, neutral.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:62500).

Geschüttelt 11h 05′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	9,20	17491	1093188
2′	6,15	16563	
3′	4,20	13650	
5′	2,24	11816	
7′	1,30		

11. VII. 1913.

Cucumaria planci. Wassergefäß.

Gew. 0,02 g; mit 2 ccm H_2O verdünnt (1:100).
Filtrat: Trübe, neutral.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:25000).

5h21′ t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	13,51	702	17550
12′	11,31	712	
18′	10,25	743	
24′	9,25		

11. VII. 1913.

Cucumaria planci. Darm.

Gew. 0,1812 g; mit 9,06 ccm H_2O verdünnt (1:50).
Filtrat: Bräunlich, trübe, neutral.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:12500).

Geschüttelt 9h 30″.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	13,21	4035	50438
5′	9,11	4368	
7′	7,45	5362	
9′	5,82		

Desgl. geschüttelt 11h 22′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	12,50	4316	53950
5′	8,40	4911	
7′	6,70	5008	
9′	5,62		

Tabelle XXXVII.

Schüttelversuche von niederen Würmern.

11. VI. 1913. Planaria polychroa.

Gew. 0,2196 g; mit 5,49 ccm H_2O verdünnt (1:25).

Filtrat: Graubraun, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250).

Geschüttelt 10h 13'.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1'	12,25	6695	41844
3'	9,00	6113	
6'	5,90	5993	
9'	3,90	5764	
12'	2,68		

Desgl. geschüttelt 9h 43'.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1'	12,40	6364	39775
3'	9,25	5909	
6'	6,15	5764	
9'	4,13	5626	
12'	2,80		

4. XII. 1912. Ascaris megalocephala. Ältere Eier.

Gew. 1,769 g; mit 44,23 ccm H_2O verdünnt (1:25).

Filtrat: Weißlich, trübe, neutral.

5 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:1250).

Geschüttelt 10h 09'

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1'30"	13,65	646	808
3'30"	13,25	615	
10'30"	12,00	638	
15'30"	11,15		

Desgl. geschüttelt 11h 23'

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1'30"	13,85	588	735
3'30"	13,48	581	
6'30"	12,95	531	
15'30"	11,60		

11. II. 1913. Ascaris megal. Jüngere Eier.

Gew. 1,9137 g; mit 19,14 ccm H_2O verdünnt (1:10).

Filtrat: Weißlich, trübe; schwach sauer.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:2500).

Geschüttelt 3h 20'.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1'30"	10,25	9006	22515
3'30"	6,77	8746	
6'30"	3,70	8906	
9'30"	2,00		

11. II. 1913. Ascaris megal. Leibeshöhlenfl.

1:5 verdünnt.

Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.

4 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:312,5).

Geschüttelt 2h 29'.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1'30"	14,60	527	165
3'30"	14,25	253	
6'30"	14,00	156	
10'30"	13,80	119	
14'30"	13,65		

Tabelle XXXVIII.

Versuche von höheren Würmern.

15. I. 1913.
Spirographis Spallanzanii. Hautschlauch.
Gew. 4,742 g; mit 118,55 ccm H_2O verdünnt (1:25).
Filtrat: Gelbgrün, neutral.
2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:3125).

Geschüttelt 11h 32′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	15,05		
3′30″	14,35	1035	3234
6′30″	13,30	1100	
9′30″	12,40	1014	
12′30″	11,30	1345	

Desgl. geschüttelt 2h 07′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	15,70		
3′30″	14,95	1063	3322
6′30″	13,70	1264	
9′30″	12,50	1327	
13′30″	11,60	1082	

28. XI. 1913.
Lumbricus terrestris. Darm.
Gew. 1,651 g; mit 41,28 ccm H_2O verdünnt (1:25).
Filtrat: Gelblich, neutral.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250)

Geschüttelt 10h 31′

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
2′	7,76		
4′	4,27	12972	81075
6′	2,45	12063	
8′	1,50	10654	
11′	0,93	10381	

10. VII. 1913.
Lumbricus terrestris. Darm.
Gew. 0,2848 g; mit 14,2 ccm H_2O verdünnt (1:50).
Diese 2:12 verdünnt.
1 ccm = 250 $^n/_{400}$-H_2N_2 (= 1:75000) 3′09″.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	12,25		
3′	9,40	5751	431325
6′	6,45	5452	
7′	5,75	4989	
9′	4,50	5323	

3. VII. 1913.
Lumbricus terrestris. Ganzes Tier.
Gew. 1,998 g; mit 39,96 ccm H_2O verdünnt.
Filtrat: Rötlich, trübe, neutral.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:5000).

Geschüttelt 10h 25′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	9,60		
2′	6,25	16802	94010
4′	3,20	15455	
8′	0,75	15752	

Weiter 1:5 verdünnt.
Davon 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:25000).
Geschüttelt 3h 01′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	12,45		
3′	10,80	3088	87200
6′	8,75	3047	
9′	7,05	3127	
11′	6,10	3142	

20. VI. 1913.
Lumbricus terrestris. Blut.
Gew. 0,2173 g; mit 10,87 ccm H_2O verdünnt (1:50).
Filtrat: Rötlich, f. klar, neutral.
2 ccm + 250 $^n/_{400}$ H_2O_2.

Geschüttelt 4h 57′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	14,29		
3′	13,35	1478	9238
9′	11,03	1215	
12′	10,00	1419	

Die niederen Krebse (Tabelle XL) schließen sich in ihrem Verhalten mehr dem der Insekten an. Sie neigen trotz des Schüttelns zu absteigenden Gängen. Recht selten wurde einmal Konstanz oder ein aufsteigender Gang bemerkt.

Tabelle XXXIX.
Schüttelversuch von Decapoden.

23. I. 1913.	23. I. 1913.	21. XII. 1912.
Pagurus Prideauxii. Leber.	Pagurus Prideauxii. Darm.	Potamobius ast. Darm.
Gew. 1,0372 g; mit 25,93 ccm H_2O verdünnt (1:25).	Gew. 0,755 g; mit 18,875 ccm H_2O verdünnt (1:25).	Gew. 1,117 g; mit 27,93 ccm H_2O verdünnt (1:25).
Filtrat: Weißlich, trübe, schwach sauer.	Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.	Filtrat: Weißlich, trübe, neutral.
2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:3125).	5 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:1250).	2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:3125).
Geschüttelt 2h 06′.	Geschüttelt 1h 46′.	Geschüttelt 10h 01′.

Pagurus Prideauxii. Leber:

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′30″	14,35	314	971
6′30″	13,84	270	
10′30″	13,50	294	
15′30″	13,05		

Pagurus Prideauxii. Darm:

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′30″	14,00	234	293
3′30″	13,85	252	
6′30″	13,58	267	
10′30″	13,25	300	
15′30″	12,80		

Potamobius ast. Darm:

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′30″	15,10	204	638
6′30″	14,75	223	
10′30″	14,45	213	
16′30″	14,10		

Die Myriapoden und Spinnen (Tabelle XLI) dagegen lassen fast immer aufsteigende Werte erkennen. Ca. $^9/_{10}$ aller Versuche neigen dazu.

Auch die Muscheln und Schnecken (Tabelle XLII) zeigen recht oft diese Tendenz. Zum großen Teil geben sie aber auch recht gute Konstanz der Werte. Fallende Gänge waren hier äußerst selten.

Was die Haltbarkeit der Extrakte anbelangt, so ist zu bemerken, daß sich die Filtrate unter Anwendung von Chloroform als Antisepticum und Aufbewahren im Eisschrank in geschlossenen Gefäßen längere Zeit ganz gut hielten. Gewöhnlich war mit dem Altern der Extrakte eine Aktivitätsabnahme verbunden. Die Fermente stellten sich bei späteren Parallelversuchen durchschnittlich auf einen niedrigeren Wert ein, zeigten aber dann meist eine gute Konstanz der Gänge. Doch wurden auch solche Extrakte beobachtet, die ihre ursprüngliche Aktivität beibehielten. Um vergleichbare Resultate zu erhalten, ist es daher nötig, die Filtrate möglichst sofort zu untersuchen.

Im getrockneten Zustand ist die katalytische Kraft sehr lange haltbar und sehr widerstandsfähig. Während die Katalase in wässeriger Lösung bei einer Temperatur um 70° C zerstört wird, kann nach **Vandevelde** und **Leboucq** (1903) die Blutkatalase im trocknen Zustand bedeutend höheren Temperaturen ausgesetzt werden, ohne völlig zugrunde zu gehen. Auch getrocknete ganze Organismen scheinen die Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen, beizubehalten.

Tabelle XL.
Schüttelversuche der niederen Krebse.

9. I. 1913.
Oniscus murarius.
25 Tiere = 1,23 g; mit 30,75 ccm H_2O verdünnt (1:25).
Filtrat: Weißlich, trübe, neutral.
5 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:1250).
Geschüttelt 2^h 12′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	16,53	708	885
3′30″	16,00	600	
6′30″	15,35	581	
10′30″	14,55	586	
15′30″	13,60		

21. I. 1913.
Asselus aquaticus.
62 Tiere = 1,133 g; mit 28,3 ccm H_2O verdünnt (1:25).
Filtrat: Braun, trübe, neutral.
5 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:1250).
Geschüttelt 12^h 46′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	13,25	203	254
6′30″	12,94	158	
10′30″	12,75	126	
14′30″	12,60		

19. XII. 1912.
Daphnia.
In der Sonne getrocknet 0,62 g; mit 31 ccm H_2O verdünnt (1:50).
Filtrat: Rotbraun, trübe.
2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250).
Geschüttelt 4^h 33′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′30″	13,30	6842	42762
6′30″	6,05	6747	
10′30″	3,25		

Getrocknete Exemplare: 42762.

9. VII. 1913.
Daphnia.
Gew. 4,1968 g; mit 41,96 ccm H_2O verdünnt. Trockengew. 4,32 %.
Filtrat: Rotbraun, trübe, neutral.
2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:1250).
Geschüttelt 9^h 13′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	13,64	1568	1960
3′	12,69	1808	
6′	11,20	1904	
9′	9,82	1836	
12′	8,65		

Auf Trockengew. ber. = 45284.

Im Gegensatz zu **Kobert**, der bei eingetrockneten Tieren keine Katalase mehr nachweisen konnte, machte **Ostwald** die Beobachtung, daß sich in getrockneten Porthesia-Räupchen die Katalysierfähigkeit erhielt. Ebenso bestätigt dies **Choay** für

Tabelle XLI.

Schüttelversuche der Myriapoden und Spinnen.

6. V. 1913. Julus unilineatus.

3 Tiere = 0,4478 g; mit 11,195 ccm H_2O verdünnt (1:25).

Filtrat: Bräunlich, trübe, neutral.

2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:3125).

Geschüttelt 11h 27′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	14,50	1959	6122
3′	13,25	2628	
6′	10,05	2535	
10′	8,55	3232	
14′	6,35		

Desgl. geschüttelt 2h 10′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	14,50	1795	5609
3′	13,35	1910	
6′	11,70	2033	
10′	9,70	3234	
14′	7,20		

22. V. 1913. Scolopendra morsitans.

Gew. 0,2403 g; mit 6,0 ccm H_2O verdünnt (1:25).

Filtrat: Opalisierend trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250).

Geschüttelt 11h 47′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	12,65	8634	53962
3′	8,50	8424	
6′	4,75	8343	
12′	1,50		

6. VIII. 1913. Epeira diadema.

Gew. 0,428 g; mit 21,400 ccm H_2O verdünnt (1:50).

Filtrat: Bräunlich, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:12500).

Geschüttelt 9h 28′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	16,00	3386	42325
2′	14,80	3772	
4′	12,44	3890	
6′	10,40	4152	
8′	8,59		

Desgl. geschüttelt 4h 13′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	12,06	3321	41513
3′	10,35	3792	
7′	7,30	4587	
9′	5,91	4324	
10′	5,35		

15. VII. 1913. Tegeneria domestica.

Gew. 0,2653 g; mit 13,3 ccm H_2O verdünnt (1:50).

Filtrat: Weißlich, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:12500).

Geschüttelt 8h 02′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	12,45	3188	39850
3′	10,75	3100	
5′	9,32	3787	
11′	5,60		

Desgl. geschüttelt 10h 10′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	11,40	3306	41325
6′	7,60	3543	
9′	5,95	4044	
12′	4,50		

getrocknete Pflanzen. Auch ich konnte mehrfach, besonders an Schnecken (Tabelle XLVII) feststellen, daß unter geeigneten Vorsichtsmaßregeln die Katalase in den getrockneten Exemplaren nicht zugrunde geht. Es wurden z. B. mehrere Schnecken zerkleinert; der eine Teil davon wurde sofort untersucht, der andere zur Trockengewichtsbestimmung im Exsiccator über Chlorcalcium und im Eisschrank aufbewahrt. Nach ca. $^1/_2$ Jahre wurde dieser getrocknete Rückstand, der solange im Eisschrank gestanden hatte, abgewogen, fein zerpulvert und 2 Tage extrahiert. Die auf das Trockengewicht berechneten und die durch Untersuchung getrockneter Tiere erhaltenen Konstanten zeigten eine auffällig gute Übereinstimmung (Tabelle XLIII). Auch Daphniden (Tabelle XL), die einmal in der Sonne getrocknet, bei einem andern Versuch sofort untersucht und auf das Trockengewicht berechnet worden waren, ließen diese bemerkenswerte Gleichheit erkennen. Selbstverständlich müssen hierbei die nötigen Vorsichtsmaßregeln angewandt werden; vor allen Dingen sind zu hohe Temperaturen zu vermeiden, und außerdem müssen die Tiere möglichst schnell getrocknet werden, damit nicht Bakterien und Fäulnis die Katalase zerstören.

Eine Erscheinung, auf die schon anfangs aufmerksam gemacht wurde, muß besonders noch hervorgehoben werden. Es gelingt nicht, durch Extraktion mit Wasser alle Katalase aus den Geweben zu entfernen. Davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man nach dem Abfiltrieren den Rückstand wieder mit Wasser ansetzt. Man wird dann noch stets eine wirksame Lösung, wenn auch von geringerer Aktivität erhalten. Das Auffällige ist nun, daß bei Herstellung mehrerer Extrakte, bei denen die Verdünnung gleich gewählt wird, die erzielte Aktivität der Extrakte die gleiche ist. Die Übereinstimmung ist im allgemeinen sehr gut. Besonders merkwürdig sind nun auch die oben skizzierten Fälle, wo die getrockneten und lange aufbewahrten Extrakte später die gleiche Wirksamkeit zeigen. Die Bedeutung der Unvollständigkeit der Extraktion ist natürlich sehr groß. Sie besagt, daß wir in keinem Falle die absolute Höhe der Katalase bestimmen, sondern nur die ihres gelösten Anteils, dessen Größe von den Versuchsbedingungen abhängig ist.

Tabelle XLII.

Versuche von Mollusken.

5. VI. 1913. Anodonta. Ganzes Tier.

Gew. 5,9821 g; mit 59,82 ccm H_2O verdünnt (1:10).

Filtrat: Gelb, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:2500).

Geschüttelt 9^h 06′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′	13,55	2638	6595
3′	12,00	2858	
6′	9,85	3102	
9′	7,95	2804	
12′	6,55		

Desgl. geschüttelt 11^h 28′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′	13,33	2740	6850
3′	11,75	2701	
6′	9,75	2506	
9′	8,20	2710	
12′	6,80		

30. I. 1913. Mytilus edulis. Blut.

Gew. 0,671 g; mit 6,71 ccm H_2O verdünnt (1:10):

Filtrat: Klar, neutral.

5 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:500).

Geschüttelt 8^h 30″.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′30″	14,50	1075	538
3′30″	13,80	1490	
6′30″	12,45	1696	
10′30″	10,65	1908	
15′30″	8,55		

28. VII. 1913. Murex brandaris. Leber.

Gew. 1,862 g; mit 39,24 ccm H_2O verdünnt (1:20)

Filtrat: Gelbbraun, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:5000). 8^h 51′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′	13,65	1618	8090
3′	12,67	1822	
6′	11,00	1965	
12′	8,60		

16. XII. 1912. Limnaea stagnalis. Ganzes Tier.

Gew. 1,307 g; mit 32,68 ccm H_2O verdünnt (1:25).

Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.

2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:3125).

Geschüttelt 12^h 18′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′30″	13,34	2191	6847
3′30″	12,06	2088	
6′30″	10,44	2068	
9′30″	9,05	2152	
12′30″	7,80		

Desgl. geschüttelt 2^h 20′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′30″	13,10	2215	6922
3′30″	11,83	2289	
6′30″	10,10	2243	
9′30″	8,65	2132	
12′30″	7,45		

22. XI. 1912. Helix pomatia. Darm.

Gew. 0,824 g; mit 20,6 ccm H_2O verdünnt (1:25). Weiter 1:4 verdünnt.

Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250).

Geschüttelt 11^h 30′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′30″	13,77	1502	46938
3′30″	12,85	1670	
6′30″	11,45	1801	
10′30″	9,70	1957	
14′30″	8,10		

Desgl. geschüttelt 12^h 15′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1:1000
1′30″	10,45	7642	47763
3′30″	7,35	6320	
6′30″	4,75	6896	
9′30″	2,95	6755	
12′30″	1,85		

Tabelle XLIII.

Haltbarkeit der Katalase in getrockneten Organismen.

Helix pomatia,
ganzes Tier, zerrieben; davon:
a) Zur sofortigen Untersuchung 8,229 g; mit 82,29 ccm H_2O verdünnt (1 : 10).
Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.
1 ccm + 250 $^{n}/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 2500).

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1000	Auf Trockengewicht
1′	12,90			
3′	11,30	2876	7260	52220
6′	9,20	2976		
9′	7,30	3349		
12′	5,85	3330		

b) Zum Trocknen angesetzt: 9,873 g, nach $^{1}/_{2}$ Jahr im Exsiccator: 1,3686 g. Diese mit 27,372 ccm H_2O verd. (1 : 20); weiter 1 : 10 verd.
Filtrat: Bräunlich, trübe, neutral.
2 ccm + 250 $^{n}/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 25000).

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1 : 1000
1′	13,05		
3′	11,85	2095	52375
5′	10,30	2217	
8′	9,10	2345	
10′	7,95	2939	

Helix pomatia,
ganzes Tier, zerrieben; davon:
a) Zur sofortigen Untersuchung 8,1019 g; mit 81,02 ccm H_2O verdünnt (1 : 10).
Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.
1 ccm + 250 $^{n}/_{400}$-H_2O_2 (1 : 2500).

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1 : 1000	Auf Trockengewicht
1′	12,75			
3′	10,80	3261	8153	33539
6′	8,30	3845		
9′	6,27	4063		
12′	4,55	4642		

b) Zum Trocknen angesetzt: 9,0614 g, nach $^{1}/_{2}$ Jahr im Exsiccator: 2,1959 g. Diese mit 21,9 ccm H_2O verd. (1 : 20); weiter 1 : 10 verd.
Filtrat: Bräunlich, trübe, neutral.
2 ccm + 250 $^{n}/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 25000).

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1 : 1000
1′	14,05		
3′	13,33	1264	31600
6′	12,25	1245	
8′	11,55	1278	
10′	10,85	1358	

Von großem Interesse ist auch eine weitere Beobachtung. Es ergab sich, daß die Extrakte selbst, ohne daß irgendetwas dazu filtriert worden war, bei längerem Stehen eine Aktivitätszunahme erkennen ließen. Schon nach 3 bis 4 Stunden war eine derartige Zunahme, die oft das Doppelte des ursprünglichen Wertes erreichte, nachzuweisen. Neben den Schnecken (Tabelle XLIV) kommen in dieser Hinsicht auch Spirographis Spallanzanii (Tabelle XLV) und die Vanessa-Arten in Betracht. Bemerkenswert ist, daß nicht alle Extrakte der betreffenden Tierart diese Zunahme zeigen. Sie stellt sich vielmehr nur manchmal ein, macht sich aber dann bei sämtlichen Organen bemerkbar. Z. B. zeigten bei Spirographis (Tabelle XLV) sämtliche Extrakte der am 23. VII. 1913 untersuchten Exemplare deutliche Aktivierung, während die am 13. I. 1913 verarbeiteten fast konstant blieben.

Tabelle XLIV.

Aktivitätszunahme bei längerem Stehen.

2. VI. 1913.

Helix pomatia. Leber.

Gew. 1,275 g; mit 31,875 ccm H_2O verdünnt (1 : 25), weiter 1 : 5 verdünnt.

Filtrat: Bräunlich, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 31 250).

Geschüttelt am 2. VI. 11^h 23′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1 : 1000
1′	13,35	3054	95 438
3′	11,60	2737	
6′	9,60	2639	
9′	8,00	2567	
12′	6,70		

Geschüttelt am 3. VI. 8^h 56′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1 : 1000
1′	12,50	5732	179 125
3′	9,60	5207	
6′	6,70	4828	
9′	4,80	4781	
12′	3,45		

13. VII. 1913.

Helix hortensis. Leber.

Gew. 2,238 g; mit 223,8 ccm H_2O verdünnt (1 : 100).

Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 25 000).

Geschüttelt am 13. VII. 8^h 30″.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1 : 1000
1′	12,55	3976	99 400
3′	10,45	4536	
5′	8,48	5019	
7′	6,73	5270	
9′	5,25		

Geschüttelt am 13. VII. 2^h 34′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1 : 1000
1′	11,37	5814	145 350
3′	8,70	5673	
6′	6,70	6220	
7′	3,38	8426	
9′	2,70		

13. VII. 1913.

Helix hortensis. Niere.

Gew. 1,147 g; mit 114,7 ccm H_2O verdünnt (1 : 100).

Filtrat: Gelblich, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 25 000).

Geschüttelt am 13. VII. 5^h 11′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1 : 1000
1′	12,36	2915	72 875
5′	9,45	2949	
7′	8,25	3047	
9′	7,17		

Geschüttelt am 14. VII. 9^h 25′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1 : 1000
1′	11,37	4846	121 150
3′	9,10	5201	
8′	5,00	6015	
11′	3,30		

13. VII. 1913.

Helix hortensis. Darm.

Gew. 0,1997 g; mit 19,87 ccm H_2O verdünnt (1 : 100).

Filtrat: Gelblichbraun, trübe, neutral.

1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 25 000).

Geschüttelt am 13. VII. 5^h 38′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1 : 1000
1′	12,60	4210	105 250
5′	8,55	4036	
7′	7,10	3180	
10′	5,70		

Geschüttelt am 14. VII. 2^h 15′.

t	$KMnO_4$	*K*	Ber. 1 : 1000
1′	9,55	9984	249 600
3′	6,05	9463	
5′	3,95	9015	
9′	1,70		

Tabelle XLV.

Aktivitätszunahme bei längerem Stehen der Spirographis-Katalase.

13. I. 1913.
Spirographis Spall.
Ganzes Tier.
Gew. 2,842 g; mit 28,42 ccm H_2O verdünnt (1 : 10).
Filtrat: Gelbgrün, neutral.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 2500).

Geschüttelt 11h 43′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	14,15	1942	4857
3′ 30″	12,94	2155	
6′ 30″	11,15	2185	
11′ 30″	8,67	2735	
14′ 30″	7,30		

Desgl. geschüttelt 2h 34′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	15,00	2369	5923
3′ 30″	13,45	2267	
6′ 30″	11,55	1848	
10′ 30″	9,70	2166	
15′ 30″	7,75		

13. I. 1913.
Spirographis Spall.
Kiemen.
Gew. 0,777 g; mit 19,43 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).
Filtrat: Klar, grün, neutral.
2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 3125).

Geschüttel 12h 03′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	14,65	1298	4056
3′ 30″	13,80	1351	
9′ 30″	11,45	1391	
12′ 30″	10,40		

Desgl. geschüttelt 2h 40′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	14,70	1294	4044
3′ 30″	13,85	1369	
6′ 30″	12,60	1459	
12′ 30″	10,30		

13. I. 1913.
Spirographis Spall.
Darm.
Gew. 0,499 g; mit 12,48 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).
Filtrat: Gelbgrün, neutral.
2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 3125).

Geschüttelt 11h 47′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	13,30	4724	14763
3′ 30″	10,70	4484	
6′ 30″	7,75	4527	
12′ 30″	4,20		

Desgl. geschüttelt 2h 44′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
11′ 30″	13,30	5257	16428
4′ 30″	9,25	4993	
6′ 30″	7,35	4681	
12′ 30″	3,85		

23. VII. 1913.
Spirographis Spall.
Hautschlauch.
Gew. 2,1301 g; mit 21,3 ccm H_2O verdünnt (1 : 10).
Filtrat: Grünlich, klar, neutral.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$ H_2O_2 (= 1 : 2500).

Geschüttelt 10h 34′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	9,70	1882	4705
6′	7,81	1899	
9′	6,85	1798	
12′	6,05		

Desgl. geschüttelt 2h 30′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	12,55	2863	7158
3′	11,00	2852	
9′	7,40	3193	
12′	5,80		

23. VII. 1913.
Spirographis Spall.
Kiemen.
Gew. 0,6886 g; mit 17,22 ccm H_2O verdünnt (1 : 25).
Filtrat: Grünlich, klar, neutral.
2 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 3125).

Geschüttelt 11h 31′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	11,80	1114	3481
3′	11,21	1310	
6′	10,24	1740	
9′	9,08	1779	
12′	8,03		

Desgl. geschüttelt 3h 06′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	12,90	2444	7638
5′	10,30	2335	
7′	9,25	2537	
9′	8,23	2742	
12′	6,81		

23. VII. 1913.
Spirographis Spall.
Darm.
Gew. 0,2995 g; mit 14,975 ccm H_2O verdünnt (1 : 50).
Filtrat: Grünlich, f. klar, neutr.
1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1 : 12500).

Geschüttelt 10h 54′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	10,25	1088	13600
7′	8,82	1144	
10′	8,15	1093	
12′	7,75		

Desgl. geschüttelt 2h 58′.

t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′	13,30	1964	24550
3′	12,15	2293	
6′	10,37	2108	
12′	7,75		

Eine andere Erscheinung wäre hier auch noch zu erwähnen. Wie schon gesagt, ist mit dem Altern sehr oft eine Aktivitätsabnahme verbunden, wobei dann die Fermente aber allmählich konstant werden. Eine Reihe von Filtraten nahmen nun bei gar nicht zu langem Stehen ganz bedeutend an Aktivität ab, so daß sie sehr rasch fast inaktiv wurden. Die Gänge dieser Fermente zeigen dazu meist noch einen sehr steilen und unregelmäßigen Abfall. Besonders die Filtrate von Potamobius und Pieris brassicae (Tabelle XLVI) verhielten sich in dieser Hinsicht sehr auffällig.

Tabelle XLVI.

Steil abfallende Gänge von Pieris brassicae-Puppen.

12. XII. 12. 6 Pupp. = 1,716 g; mit 42,9 ccm H_2O verd. (1:25). Filtrat: Gelb-bräunlich, neutr. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (1:6250).				Das gleiche Filtrat.				Das gleiche Filtrat.			
Sofort untersucht 10^h 09′.				Desgl. untersucht 4^h 30′.				Desgl. untersucht am 13. XII. 9^h 47′.			
t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000	t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000	t	$KMnO_4$	K	Ber. 1:1000
1′ 30″	14,16	4051	25378	1′ 30″	13,53	2788	17425	1′ 30″	15,00	2005	12531
3′ 30″	11,75	2481		3′ 30″	11,90	1881		3′ 30″	13,06	1748	
7′ 30″	9,35	1993		6′ 30″	10,45	1150		6′ 30″	12,05	1663	
11′ 30″	7,86	1880		10′ 30″	9,40	778		11′ 30″	9,95	1293	
14′ 30″	6,85			14′ 30″	8,75			14′ 30″	9,10		

Eine dritte Schwierigkeit in der Bewertung der Anfangswerte bestand darin, daß einerseits die Gänge mit niedrigen Konstanten begannen und dann eine aufsteigende Tendenz erkennen ließen und anderseits bei den Parallelversuchen öfters mit hohen K-Werten einsetzten und dann im Laufe der Reaktion abfielen. Besonders bei den Schnecken wurden derartige Beobachtungen hin und wieder gemacht. In Tabelle XLVII sind mehrere Beispiele dafür angegeben. Trotz der verschiedenen Anfangswerte pendeln doch die Gänge um einen Durchschnittswert herum. Eine Reihe von Parallelversuchen führt also auch hier zu einem annehmbaren Mittelwert.

Derartige Unregelmäßigkeiten sind bei den Fermentuntersuchungen immer anzutreffen. Sie sind auch zu verstehen und zu erwarten aus dem, was wir über Kolloide wissen. Sowohl die Aktivierungen bei der Schnecken- und Spirographis-Katalase als auch die Aktivitätsabnahmen sind von folgendem

Tabelle XLVII.

Parallelversuche zur Feststellung des Anfangswertes bei schwankenden Konstanten.

17. XII. 1912. Helix pomatia. Leber. Gew. 1,142 g; mit 28,55 ccm H_2O verdünnt (1:25). Filtrat: Bräunlich, trübe, neutral. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250).	Dasselbe Filtrat.	17. XII. 1912. Helix pomatia. Darm. Gew. 0,406 g; mit 10,2 ccm H_2O verdünnt (1:25). Filtrat: Gelblichbraun, neutral. 1 ccm + 250 $^n/_{400}$-H_2O_2 (= 1:6250).	Das gleiche Filtrat.
Geschüttelt 3h 03′. *t* — $KMnO_4$ — *K* — Ber. 1:1000 1′ 30″ — 9,00 3′ 30″ — 6,20 9′ 30″ — 2,20 11′ 30″ — 1,75 *K*: 8093, 7409, 4969 Ber. 1:1000: 50581	Desgl. geschüttelt 4h 06′. *t* — $KMnO_4$ — *K* — Ber. 1:1000 1′ 30″ — 10,75 3′ 30″ — 7,91 8′ 30″ — 4,25 12′ 30″ — 2,85 *K*: 6662, 5242, 4339 Ber. 1:1000: 41637	Geschüttelt 4h 22′. *t* — $KMnO_4$ — *K* — Ber. 1:1000 1′ 30″ — 10,90 3′ 30″ — 8,33 5′ 30″ — 6,45 11′ 30″ — 3,00 *K*: 5839, 5555, 5541 Ber. 1:1000: 36494	Desgl. geschüttelt 4h 53′. *t* — $KMnO_4$ — *K* — Ber. 1:1000 1′ 30″ — 11,00 3′ 30″ — 8,45 5′ 30″ — 6,45 8′ 30″ — 4,37 11′ 30″ — 3,00 *K*: 5727, 5865, 5636, 5445 Ber. 1:1000: 35794
Desgl. geschüttelt 3h 37′. *t* — $KMnO_4$ — *K* — Ber. 1:1000 1′ 30″ — 11,25 3′ 30″ — 8,90 5′ 30″ — 6,80 8′ 30″ — 4,40 11′ 30″ — 2,75 *K*: 5088, 5844, 6302, 6802 Ber. 1:1000: 31800	Desgl. geschütt. a. 18. XII. 4h 03′. *t* — $KMnO_4$ — *K* — Ber. 1:1000 3′ 30″ — 7,03 5′ 30″ — 5,60 7′ 30″ — 4,45 9′ 30″ — 3,50 11′ 30″ — 2,70 *K*: 4938, 4992, 5215, 5635 Ber. 1:1000: 30863	Desgl. geschüttelt 4h 36′. *t* — $KMnO_4$ — *K* — Ber. 1:1000 1′ 30″ — 10,54 3′ 30″ — 8,70 5′ 30″ — 7,05 8′ 30″ — 5,07 11′ 30″ — 3,75 *K*: 4750, 4566, 4773, 4366 Ber. 1:1000: 29687	—

Gesichtspunkte erklärbar. Bei längerem Stehen muß man erwarten, daß sich die physikalischen Zustände der kolloidalen Systeme ändern und daß damit Adsorptionsänderungen parallel gehen, die wieder auf die Aktivität der Katalase von großem Einfluß sind. Etwas anders liegen die Verhältnisse bei den unregelmäßigen und sehr schnell und steil abfallenden Katalasepräparaten, z. B. von Pieris brassicae, Potamobius astacus und den Pilzen. Hier muß man annehmen, daß neben physikalischen Faktoren auch chemische mit im Spiele sind. Es handelt sich in diesem Falle wahrscheinlich um Gifte für die Katalase, die im Organismus von der Katalase irgendwie getrennt sind, beim Verreiben aber mit diesem Fermente zusammenkommen.

Auch das Auftreten der Gänge bei der Berechnung der K-Werte nach der Reaktionsgleichung erster Ordnung ist verständlich. In Wirklichkeit verläuft die fermentative Hydroperoxydzersetzung gar nicht nach der Reaktion erster Ordnung. Wir benutzen nur für die Berechnung diese Formel, um die Ergebnisse übersichtlich darstellen zu können, da die fermentative H_2O_2-Zersetzung annähernd danach verläuft. Im Grunde genommen müßte man die graphische Darstellung wählen. Doch ist es unmöglich, derartige Versuchsserien, wie sie hier gewonnen werden, auf diese Weise übersichtlich darzustellen.

Für eine vergleichende Wertung sind die obengenannten Einflüsse sehr störend. Man kann sich aber durch eine größere Serie von Parallelversuchen gegen die sich daraus ergebenden Fehler schützen. Es war direkt überraschend, wie gut übereinstimmende Durschschnittswerte man selbst bei den schwierigsten Objekten mit der nötigen Ausdauer erhielt.

Zusammenfassung.

Auf Grund einer neuen verbesserten Methodik und auf Grund von wichtigen Befunden an den Insekten von Steche und Waentig stellte sich die Notwendigkeit heraus, die Verteilung der Katalase in den Organismen und ihren Organen festzustellen und zu versuchen, ob sich aus dieser Verteilung der Katalase auch Schlüsse auf ihre physiologische Funktion ziehen ließen.

Als Versuchsmaterial wurden die niederen Tiere gewählt, da sie bis jetzt verhältnismäßig wenig auf die Katalase hin untersucht worden waren. Mit Ausnahme der Protozoen wurden aus fast allen Tiergruppen Organismen geprüft.

Es ergab sich dabei, daß eindeutige Beziehungen zur Lebensweise der Organismen, speziell zur Intensität der Oxydationsprozesse, sich nicht aufstellen ließen. Weder Atmung (speziell Luft- oder Wasseratmung) noch Ernährung, noch Bewegung ließen in durchsichtiger Weise einen Einfluß auf den Katalasegehalt erkennen.

Daß Katalasegehalt und Stoffwechsel in gesetzmäßigem Zusammenhang stehen, geht aus folgendem hervor:

1. Diejenigen Organe, die besonders chemisch tätig sind, wie die Leber und die Niere, zeichnen sich durch einen hervorragenden Gehalt an Katalase aus. Dieses Verhalten trifft sowohl für die wirbellosen als auch für die Wirbeltiere zu.

Der Darm zeigt ein wechselndes Verhalten, das davon abhängig zu sein scheint, inwieweit er die Funktion der Leber (Mitteldarmdrüse) mit übernehmen muß.

Der Hautmuskelschlauch ist meist wenig aktiv. Das Fettgewebe ist sehr reich an Katalase, speziell bei Insekten, wo es im Stoffwechsel sicher eine wichtige Rolle spielt.

Bei der Lymphe ergibt sich eine ausgesprochene Parallelität zwischen Katalasegehalt und Reichtum an Hämoglobin einerseits, an geformten Bestandteilen andererseits.

2. Es gelang nachzuweisen, daß im Winter, im Zustande geringer Lebenstätigkeit, der Katalasegehalt des Darmes der Echinodermen, von Lumbricus, der Schnecken bedeutend geringer ist als im Sommer. Auffällig trat bei den Schnecken und dem Igel die zeitliche Parallelität zwischen dem Katalase- und Glykogengehalt in der Leber hervor (gegensätzliches Verhalten während des Winterschlafes).

3. Unreife Eier sind sehr aktiv, die reifen Eier haben nur geringe katalytische Kraft. Dotterarme, also frühschlüpfende Eier lassen während der Entwicklung keine Zunahme erkennen; dotterreiche und die Embryonen der Säugetiere erzielen während des Embryonallebens schon eine größere Aktivität, ohne aber die für die jeweiligen Arten charakteristischen Werte zu erreichen. Erst im Moment der Geburt, wenn die Organe ihre

volle Funktion aufnehmen, nimmt die Katalase rapid bis zu einem Maximum zu, um dann wieder abzufallen.

4. Charakteristisch sind die Verhältnisse bei der postembryonalen Entwicklung der Insekten. Tiere mit hemimetaboler Entwicklung lassen keinen Unterschied zwischen den ausgewachsenen und sich entwickelnden Organismen erkennen. Bei den holometabolen Gruppen (Lepidopteren) dagegen sind die jüngsten Larvenstadien sehr aktiv. Dann sinkt der Katalasegehalt und erreicht sein Minimum etwa bei der vorletzten Häutung. Hierauf nimmt er rapid zu, erreicht das Maximum in der Puppe und fällt gegen die Imago wieder steil ab. Es besteht hierbei eine eindeutige Beziehung zu der auf Kosten des Fettgewebes erfolgenden Ausbildung der Geschlechtsprodukte. Daher lassen Tiere mit kurzer Puppenruhe eine schnelle Abnahme des Katalasegehaltes erkennen. Bei überwinternden Puppen tritt sie erst kurz vor dem Schlüpfen ein, wenn die Geschlechtsprodukte gebildet werden. Erfolgt die Geschlechtsreife erst längere Zeit nach dem Schlüpfen (Tagfalter, Coleopteren), so sind auch die Imagines zuerst noch stark aktiv.

Die messende Verfolgung des Reaktionsverlaufes begegnet großen Schwierigkeiten, die es nicht gestatten, absolute und exakte Werte für den Katalasegehalt der einzelnen Gewebe zu erhalten. In erster Linie kommen hierfür die unvollständige Extrahierbarkeit und die große Labilität der Fermentlösungen in Betracht. Durch eine hinreichende Zahl von Parallelversuchen gelingt es jedoch, überraschend gute Durchschnittswerte zu erhalten.

Die Kinetik der Reaktion fügt sich, soweit untersucht, durchweg dem von Steche und Waentig aufgestellten Schema der Adsorptionskatalyse an.

Über Giftwirkung des Ninhydrins.

Von

Oscar Loew.

(Eingegangen am 26. November 1914.)

Es besteht heutzutage darüber wohl kein Zweifel mehr, daß die tödliche Wirkung gewisser Stoffe, wenn sie in kleinen Mengen und in völlig neutraler Lösung in lebende Zellen eindringen, auf das innigste mit ihrer chemischen Struktur zusammenhängt. Die weitere logische Forderung hieraus, daß nämlich die lebende Substanz bzw. die ihr zugrunde liegenden Proteine eine dementsprechende chemische Struktur besitzen müssen, scheint aber in Anbetracht der angenommenen Polypeptidstruktur der Eiweißkörper nicht gezogen worden zu sein.

Nach der von mir seit 1881 vertretenen Ansicht entspricht die labile Form der Proteine der lebenden Substanz einer Hydroxyl-Aminoaldehydstruktur. Wenn nun diese Struktur für die große Labilität der lebenden Substanz maßgebend ist, so müssen auch alle diejenigen Stoffe Giftwirkung äußern, die noch leicht bei großer Verdünnung in Aldehyd und labile Aminogruppen eingreifen können, ein Schluß, der schon vielfach bestätigt worden ist[1]).

Nun ist in neuerer Zeit von Ruhemann[2]) ein Körper mit 3 Ketongruppen, das Triketohydrindenhydrat (Ninhydrin) dargestellt worden, von dem sich voraussehen ließ, daß es ein allgemeines Gift sein müsse.

```
      CH  CO
     //\C/ \
  HC/   ||   \    /OH
  |     ||    >C<
  HC\\  ||   /    \OH
      \/C\ /
      CH  CO
```

Ninhydrin.

[1]) Vgl. Die chemische Energie der lebenden Zellen. Kap. 9.

[2]) Chem. Centralbl. **1910**, nach Journ. Chem. Soc. **1910**.

Sein infolge der 3 Ketogruppen erleichterter Eingriff in Aminogruppen ging schon aus der Reagierfähigkeit mit Aminosäuren hervor, wobei eine blaue Färbung entsteht, wie schon von seinem Entdecker festgestellt worden ist. Dieser Körper muß bei physiologischen Versuchen stets frisch gelöst werden, weil die Lösung bei längerem Stehen eine saure Reaktion annimmt.

I. Versuche mit Bakterien.

Es wurde eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung:

500 g Wasser
5 g Mannit
1 g Kaliumnitrat

und je 0,2 g K_2HPO_4, KH_2PO_4 und $MgSO_4$ verwendet.

Das Ninhydrin wurde erst nach dem Sterilisieren der Lösung zugesetzt. Zur Infektion dienten Bac. methylicus, Bac. subthilis und Bac. fluorescens liquefaciens. Die Kolben blieben bei Zimmertemperatur stehen. Bei Zusatz von 1 p. m. Ninhydrin zeigte sich selbst nach Wochen keine Spur von Entwicklung, während in den Kontrollkolben bereits nach mehreren Tagen starke Trübung und flockiger Bodensatz von Bakterienmassen zu erkennen waren. Bei Bac. methylicus wurde noch ein Versuch mit 0,1 p. m. Ninhydrin und der auf das Fünffache verdünnten obigen Lösung ausgeführt. Auch hier fand keine Spur Entwicklung statt, während eine reichliche im Kontrollfalle. Bei Infektion mit Schimmelsporen trat selbst bei 1 p. m. Ninhydrin eine langsame Entwicklung von Mycelium ein. Das scheinbare Ausbleiben der Giftwirkung hier wird wohl auf dem mangelhaften Eindringen des Giftes in diese Zellen beruhen, wie auch die oft erstaunliche Resistenz von Schimmelpilzzellen in vielen anderen Fällen vermuten läßt; hat man doch selbst in Lösung von 2 °/₀ Schwefelsäure allmählich die Entwicklung von Pilzfäden, die sich zu Knäueln ballen, beobachtet. Offenbar ist hier der bei häufigem Öffnen in die Flaschen eindringende Staub und die Dämpfe der Laboratoriumsluft für die Entwicklung von Fäden einer Dematium-Art verantwortlich. Während hier also die nährenden Stoffe durch die Membranen der Zellen passieren, wird wahrscheinlich der Schwefelsäure das Eindringen verwehrt; denn sonst müsste wohl das Protoplasma der Zellen absterben.

II. Beobachtungen an Algen.

Als zu Algenkulturwasser mit zahlreichen Diatomeen Ninhydrin im Verhältnis von 1:20000 gesetzt wurde, waren nach 2 Tagen bei 20 bis 22° alle Diatomeen tot, kein einziges Exemplar zeigte mehr Spuren von Bewegung; ebenso war bei Oscillaria jede Bewegung erloschen; bei Cosmarium war der Inhalt kontrahiert, bei Nostoc war Verblassen der normalen grünen Farbe eingetreten. Bei kleineren Spirogyra-Arten war Cytoplasma und Kern kontrahiert und die spiralige Anordnung des Chlorophyllbandes völlig verändert. Einzelne Zellen hatten mit dem Ninhydrin mit blauer Farbe reagiert und zwar teils das Cytoplasma und der Kern, teils nur der Zellkern allein. Dieses ist um so bemerkenswerter, als andere größere Spirogyra-Arten sogar beim Kochen mit 0,1%iger Ninhydrinlösung keine Blaufärbung lieferten. Als Spirogyra majuscula mit reichlich gespeichertem labilen Eiweiß mit einer 1%igen Lösung von Ninhydrin behandelt wurde, kontrahierte sich der Zellkern sehr bedeutend innerhalb 40 Minuten und die Chlorophyllbänder verquollen, das Cytoplasma verlor den Turgor. Einige Zellen wurden schwach blau, besonders der Nucleolus. Es möchte fast scheinen, als ob hier die blaue Ninhydrinreaktion nur eintritt, wenn Zerfallsprodukte in den Organoiden enthalten sind. Bei der weit größeren Spirogyra crassa traten obige Erscheinungen erheblich langsamer ein.

III. Beobachtungen an Phanerogamen.

Samen verschiedener Grasarten wurden 2 Tage in einer 0,2%igen Lösung von Ninhydrin belassen und dann nach Abgießen der Lösung in einer Glaskammer auf feuchtem Filtrierpapier sich überlassen. Die Keimung unterblieb, nur bei einigen wenigen Samen waren beginnende Spuren zu sehen, die jedoch ohne jede weitere Entwicklung blieben. Im Kontrollfalle keimten alle Samen und entwickelten sich die Keimlinge völlig normal. — Keimlinge von Hafer und Gerste mit 2 bis 4 cm langen Sprossen wurden in eine 0,05%ige Lösung von Ninhydrin gesetzt. Jedes Wachstum war nun sistiert und die Keimlinge tsarben allmählich ab.

Blattschnitte von Taraxacum und Carpinus wurden in eine 0,1%ige Lösung von Ninhydrin eingelegt, nach 2 Tagen

waren die Blattschnitte bis auf 0,3 cm Breite von der Schnittfläche her abgestorben und gebräunt, während die Kontrollstücke völlig intakt waren.

IV. Beobachtungen an Protozoen und niederen Wassertieren.

Ein Tropfen Wasser aus einer Kultur von Algen mit Protozoen wurde unter dem Mikroskop gemischt mit einem Tropfen einer 0,05 $^0/_0$ igen Ninhydrinlösung. Sofort zeigten sich energische Fliehbewegungen, die sich allmählich verlangsamten und nach 5 Minuten vollständig aufhörten; alle größeren Infusorien und Flagellaten waren nun tot, nach 9 Minuten auch die kleineren Flagellaten, nur die Monaden lebten noch einige Minuten länger. Rotatorien, Nematoden, Ostracoden, Wasserkäfer und Wasserschnecken waren nach einem Tag abgestorben, als zum Kulturwasser 0,1 $^0/_0$ Ninhydrin gesetzt wurde.

V. Beobachtungen an Säugetieren.

Um 10 Uhr 12 Minuten wurden einer Maus von 21 g Gewicht 0,5 ccm einer 2 $^0/_0$ igen Lösung von Ninhydrin injiziert auf der rechten Seite am hinteren Teil des Rückens. Nach 3 Minuten ist die Atmungsfrequenz etwas erhöht und gleich darauf beginnt ein Stadium großer Apathie, die Ohren und Hinterfüße sind vorübergehend ganz blaß. Die Nase liegt fest auf dem Tische auf, das Tier ist bewegungslos. Nach 35 Minuten wird das Atmen langsam, stoßweise und tiefer als vorher. Nach 46 Minuten vermag sich das Tier, wenn auf den Rücken gelegt, nicht mehr umzudrehen, die Augen reagieren nur noch schwach beim Berühren. Das Tier liegt wie tot da, atmet aber noch. Exit 12 Uhr 10 Minuten. Bei der Sektion ergab sich, daß die Milz dunkelfarbig und vergrößert war.

Bei einem Fütterungsversuch an einer Maus ergab sich, daß 0,005 g Ninhydrin in Lösung auf Brot gegeben keine deutlichen Vergiftungserscheinungen nach sich zog. Da das Ninhydrin im Magen und Darm von den Verdauungsprodukten gebunden werden konnte, gelangte es wahrscheinlich gar nicht bis zu den Ganglienzellen. Die Maus wurde nach 24 Stunden getötet und keine auffallenden Erscheinungen wahrgenommen. Der Magen war aber leer und mit dickem zähen Schleim bedeckt.

Um 11 Uhr 20 Minuten wurden einem jungen Meerschweinchen von 172 g Gewicht hinten auf der rechten Seite 2 ccm einer 2 $^0/_0$ igen Lösung von Ninhydrin injiziert, worauf das Tier sofort intensive Schreie ausstieß. Bald fließt Speichel aus dem Mund und Tränen aus den Augen. Nach 8 Minuten kann sich das Tier nicht mehr auf den Beinen halten und ist im Zustande großer Apathie. Nach 20 Minuten ist die Atmung verlangsamt, und wenn auf den Rücken gelegt, erhebt sich das Tier nicht mehr. Exit um 12 Uhr 4 Minuten. Die Sektion ergab an der Injektionsstelle einen Bluterguß von der Größe eines Markstückes, dessen Blut eine violette Farbe hatte, was auf der blauen Reaktion des Ninhydrins mit den Eiweißkörpern des Blutes beruht. Das Blut des Herzens besaß dagegen normale Farbe. Eine Milzvergrößerung war hier nicht wahrzunehmen. Es war hier ja auch die injizierte Giftmenge relativ geringer als beim Versuch mit der Maus.

Schlußfolgerung.

Das Ninhydrin hat sich in Übereinstimmung mit der Theorie als ein Gift für verschiedene niedere und höhere Lebewesen ergeben. Eine scheinbare Ausnahme bei Schimmelpilzen dürfte darauf beruhen, daß jener Stoff nur sehr schwierig zu dem Protoplasma dieser Zellen vordringen kann.

Über die Darstellung eines Urease-Trockenpräparates und über einige Eigenschaften der Soja-Urease.

Von

Martin Jacoby und Sugga.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 5. Dezember 1914.)

Bei den Arbeiten über die Soja-Urease hatte sich im hiesigen Laboratorium das Bedürfnis herausgestellt, ein haltbares und wasserlösliches Dauerpräparat zur Verfügung zu haben. Es wurde daher ein solches Präparat hergestellt, das der eine von uns (Jacoby) am 9. Januar 1914 in der Berliner physiologischen Gesellschaft demonstrierte. Mit derartigen Präparaten wurden auch die folgenden Versuche ausgeführt.

I. Herstellung der Soja-Fermentpulver.

Da wir bei den Untersuchungen von Margarete Falk die nach Armstrong hergestellten Extrakte aus Sojabohnen als sehr wirksam kennengelernt hatten, wählten wir sie auch als Ausgangsmaterial für die Dauerpräparate. Die Sojabohnen wurden in einer Kaffeemühle zermahlen und, wenn notwendig, noch im Mörser zerstoßen, um ein feines Pulver zu erhalten. Das so gewonnene Mehl wurde gehörig mit Petroläther extrahiert. Hierzu wurde es in eine große Nutsche gefüllt, deren Abfluß durch Gummischlauch mit Klemme abgeschlossen war. Der Petroläther wurde aufgegossen, 1 Stunde darauf belassen, dann unten geöffnet, der Äther abgesaugt. Diese Prozedur wurde 6 mal wiederholt. Dann wurde das Mehl auf Glasplatten ausgebreitet und über Nacht lufttrocken gemacht. Nunmehr wurde das entfettete Mehl mit dem fünffachen Volumen Wasser für 16 bis 24 Stunden in den Eisschrank gestellt. Dann saugt

man die obenstehende milchige Flüssigkeit ab. Macht das Schwierigkeiten, so kann man die Milch auch abzentrifugieren. Die erhaltene Flüssigkeit wird in Schalen mit flachem Boden gegossen und bei Zimmertemperatur im Faust-Heimschen Apparate durch Überleitung eines Luftstromes getrocknet. Anfangs haben wir Temperaturen von 30 bis 40° angewandt, fanden aber dann, daß das Trocknen bei niedrigerer Temperatur (Zimmertemperatur) praktischer war. Wir erhielten einen hornartigen Rückstand, der mit dem Spatel abgekratzt und im Mörser zu einem feinen Pulver zerrieben wurde.

Das Pulver ist in Wasser löslich, allerdings etwas schwer und nicht ganz vollständig. Durch Filtration der opalisierenden Flüssigkeit kann man eine klare Lösung erhalten.

II. Methodik der Ureaseprüfung.

Die Anordnung der Versuche entsprach dem Vorgehen, wie es Falk sowie Jacoby und Umeda in den aus dem hiesigen Laboratorium hervorgegangenen Arbeiten angewandt haben:

Erlenmeyersche Kolben werden so mit Zuleitungs- und Ableitungsrohr armiert, daß sie mittels Gummischläuchen später direkt in einen Dampfdestillationsapparat eingefügt werden können. Die Schläuche werden durch doppelte Klemmen geschlossen, die erst nach der Einfügung in den Destillationsapparat geöffnet werden, so daß also Ammoniak nicht verloren gehen kann.

In jeden Kolben kommt außer der auf Ureasewirkung zu prüfenden Flüssigkeit bei Beginn des Versuchs 20 ccm einer $2\,^0/_0$igen Harnstofflösung, 1 ccm Toluol und 1 ccm Olivenöl. Das Öl, das den Fermentprozeß nicht stört, verhindert ein zu starkes Schäumen bei der Destillation. Alle Kontrollen werden bei gleicher Verdünnung und doppelt angesetzt. Nach Abschluß der Fermenteinwirkung wird 15 bis 20 Minuten in strömendem Dampf destilliert, das Destillat in n-Schwefelsäure aufgefangen. Nach Beendigung der Destillation wird das Destillat aufgekocht und nach dem Erkalten unter Verwendung von Lakmoid-Malachitgrün als Indicator titriert.

III.

Die Wirksamkeit der Fermentpulver ist eine sehr befriedigende. Man kann bis $100\,^0/_0$ des zugesetzten Harnstoffs

damit spalten, wenn man eine genügende Menge Ferment eine hinreichende Zeit einwirken läßt. Z. B. setzten von einem Pulver, von dem 45 g dargestellt waren, 0,04 g (in 10 ccm Wasser gelöst) in 22 Stunden 20,8 und 21,4% des zugesetzten Harnstoffs (0,4 g) um.

Durch Behandlung mit Alkohol wird das Ferment sehr schnell unlöslich, ohne seine Wirksamkeit einzubüßen.

1 g Fermentpulver wird in 180 ccm Alkohol absol. und 85 ccm Wasser aufgenommen und tüchtig durchgemischt. Dabei setzt sich ein eichlicher Niederschlag ab, der abfiltriert und getrocknet wird. Man erhält 0,518 g Pulver. Davon werden zwei Proben à 0,2 g auf Ureasewirkung geprüft. — Brutschrank: 22 Stunden.

Alkohol-niederschlag	Abgespaltener $^n/_{10}$-NH_3	Umgesetzter Harnstoff
0,2 g	110,0	82,1%
0,2 g	110,6	82,5%

1 g Fermentpulver wird mit 40 ccm Wasser und 80 ccm Alkohol absol. gemischt, der Niederschlag sofort abfiltriert und getrocknet. Es wird 0,29 g Pulver erhalten. Davon werden zwei Proben à 0,1 g auf Ureasewirkung geprüft. — Brutschrank: 22 Stunden.

0,1 g	26,6	19,8%
0,1 g	24,3	18,1%

In den Filtraten der Fermentniederschläge waren nach vorsichtigem Abdunsten des Alkohols bei niederer Temperatur stets nur noch geringe Fermentspuren nachweisbar. — Die Fermentpulver sind anscheinend in Wasser so gut wie unlöslich. Es war daher zu prüfen, ob vielleicht trotzdem das Ferment aus ihnen durch Wasser extrahierbar wäre. Das gelang aber nicht oder nur sehr unvollkommen und zwar auch dann, wenn der ganz frisch durch Alkoholfällung erhaltene Niederschlag sofort in Wasser verteilt wurde.

Über die Zerstörbarkeit der Urease durch Hitze geben folgende Versuche Aufschluß:

1 g Fermentpulver wird in 100 ccm Wasser gelöst. Davon werden:

2 Portionen à 10 ccm 30 Min. im Wasserbad auf 60° erwärmt
2 " à 10 " 30 " " " " 70° "
der Rest bei Zimmertemperatur belassen.

Zu jeder Probe werden je 8 ccm = 0,08 g Pulver verwandt.

Nr.	Brutschrank-zeit	Zimmertemperatur (Kontrolle)	60°	70°
1	19 Std.	104,1	96,3	44,15
		103,7	95,35	44,0
2	21 Std.	107,45	103,6	44,7
		105,6	103,4	44,1
3	$21^1/_2$ Std.	110,6	104,5	48,5
		109,5	107,1	47,05

Umgesetzter Harnstoff in Prozenten.

Nr.	Kontrolle	60°	70°
1	77,55	71,55	32,85
2	79,5	77,25	33,15
3	82,1	78,95	35,65

Eine halbstündige Einwirkung von 60° bewirkt demnach nur eine geringfügige Abschwächung, während 70° schon recht erheblich die Urease schädigt.

Da das Verhalten der Urease gegenüber Verdauungsfermenten für die Reinigung des Enzyms von Bedeutung sein könnte, wurde die Resistenz gegen Trypsin und gegen Papayotin untersucht.

Zur Anwendung kam ein Trypsin Merck, das kräftig Eiweiß verdaute und, wie besonders geprüft wurde, Harnstoff nicht spaltet.

1 g Soja-Fermentpulver werden mit 0,5 g Trypsin und 50 ccm Wasser gemischt. Die Mischung reagiert schwach sauer und wird durch 5 Tropfen einer 10%igen Sodalösung neutralisiert. 15 Minuten nach der Mischung werden zwei Portionen à 5 ccm = 0,1 g Fermentpulver entnommen und in üblicher Weise für 22 Stunden in den Brutschrank zur Prüfung auf Ureasewirkung gebracht.

Es werden abgespalten:

111,25 ccm $^n/_{10}$-NH_3 = 83,0%
110,2 „ „ = 82,2%

Läßt man das Gemisch vor dem Harnstoffzusatz erst noch 24 Stunden mit Toluol im Eisschrank stehen, so ergibt die dann einsetzende Prüfung einen abgeschwächten Harnstoffumsatz. Das ist aber nicht auf Rechnung der Trypsinwirkung zu setzen, da auch ohne Trypsinzusatz in dieser Zeit eine Abschwächung der Urease eintritt. Ein anderer Versuch zeigt, daß auch eine kräftigere Trypsineinwirkung keine Schwächung der Urease herbeiführt.

1 g Soja-Fermentpulver werden mit 0,5 g Trypsin, 2 ccm Toluol, 5 Tropfen Soda (10 %) und 50 ccm Wasser gemischt. Das Gemisch bleibt 22 Stunden bei Zimmertemperatur. Dann werden zwei Proben entnommen (à 5 ccm), die noch 2 Stunden bei Zimmertemperatur belassen werden, während der Rest für 2 Stunden in den Brutschrank kommt. Darauf wird mit allen vier Proben der Ureaseversuch für 22 Stunden angesetzt.

Ohne Brutschrank-Trypsineinwirkung:

1. 88,9 ccm = 66,3 %
2. 85,6 „ = 63,9 %

Mit Brutschrank-Trypsineinwirkung:

1. 87,6 ccm = 65,4 %
2. 87,7 „ = 65,4 %

Das benutzte Papayotin „Merck“ verdaute auch kräftig Eiweiß und hatte keine Ureasewirkung. Versuche mit Papayotin schienen deshalb erwünscht, weil vielleicht dieses proteolytische Pflanzenferment stärker auf die Sojaproteine einwirkt als das Trypsin. Wir hatten auch mit Trypsin Versuche gemacht, bei denen wir kürzere Zeit (30 Minuten) bei 60° das Trypsin auf die Urease einwirken ließen. Dabei wurde die Urease nur sehr wenig geschädigt. Dieselbe Versuchsanordnung haben wir sehr häufig beim Papayotin zur Anwendung gebracht, da gerade von diesem Ferment bekannt ist, daß es schon in kurzer Zeit bei höheren Temperaturen sehr intensive Wirkungen entfaltet.

1 g Soja-Fermentpulver wird mit 0,2 g Papayotin und 40 ccm Aq. dest. gemischt, es setzt sich ein dicker Niederschlag ab. Von dem Gemisch werden sofort 2 mal 10 ccm in 2 Reagensgläser aufgenommen und 30 Minuten in ein Wasserbad von 60° eingetaucht. Die übrige Flüssigkeit bleibt dieselbe Zeit bei Zimmertemperatur. Dann werden von 2 Anteilen 2 mal je 8 ccm auf Ureasewirkung geprüft.

Brutschrank: 22 Stunden.

60°-Papayotineinwirkung:

1. 124,8 ccm = 93,1 %
2. 124,3 „ = 92,8 %

Zimmertemperatur-Papayotineinwirkung:

1. 126,3 ccm = 94,2 %
2. 124,7 „ = 93,1 %

Brutschrank: 22 Stunden, dann 23 Stunden Eisschrank.

60°-Papayotineinwirkung:

1. 101,3 ccm = 75,6 %
2. 102,1 „ = 76,2 %

Zimmertemperatur-Papayotineinwirkung:

128,0 ccm = 95,5 %
127,0 „ = 94,8 %

1 g Soja-Fermentpulver wird mit 20 ccm Aq. dest. gemischt. Zu 10 ccm des Gemisches wird 10 ccm Aq. dest. und 0,1 g Papayotin, zu 10 ccm nur 10 ccm Aq. dest. getan. Beide Proben werden 30 Minuten auf 60° erwärmt und dann auf Ureasewirkung geprüft, und zwar immer je 8 ccm.

Brutschrank: 18 Stunden.

Ohne Papayotin:

129,0 ccm = 96,3 %
128,9 „ = 96,2 %

Mit Papayotin:

115,9 ccm = 86,5 %
116,2 „ = 86,7 %

Wiederholung des Versuchs. Brutschrank: 22 Stunden.

Ohne Papayotin:

131,3 ccm = 98,0 %
130,8 „ = 97,0 %

Mit Papayotin:

123,8 ccm = 92,4 %
122,9 „ = 91,7 %

Da wir gesehen hatten, daß auch bei 70° nur eine teilweise Zerstörung der Urease eintritt, so lohnte es den Versuch, das Papayotin einige Zeit bei dieser Temperatur auf die Sojaproteine einwirken zu lassen.

1 g Soja-Fermentpulver wird mit 0,2 g Papayotin und 40 ccm Aq. dest. gemischt. Davon werden 20 ccm für 10 Minuten auf 70° erwärmt, der Rest bei Zimmertemperatur belassen. Von jedem Anteil werden zwei Proben à 8 ccm auf Ureasewirkung geprüft.

Brutschrank: 19 Stunden.

70°:

1. 74,5 ccm = 55,6 %
2. 72,3 „ = 54,0 %

Zimmertemperatur:

1. 128,6 ccm = 96,0 %
2. 128,8 „ = 96,1 %

Wiederholung des Versuchs. Brutschrank: 22 Stunden.

70°:

1. 79,6 ccm = 59,4 %
2. 83,9 „ = 62,6 %

Zimmertemperatur:

1. 130,2 ccm = 97,2 %
2. 128,6 „ = 95,9 %

In weiteren Versuchen ließen wir das Papayotin 3 Stunden bei 50° auf die Urease einwirken.

2,0 g Soja-Fermentpulver werden mit 0,4 g Papayotin, 80 ccm Aq. dest. und 2 ccm Toluol gemischt. Davon werden 45 ccm 3 Stunden auf 50° erwärmt, während 35 ccm bei Zimmertemperatur belassen werden. Von jedem Anteil werden zwei Proben à 15 ccm auf Urease geprüft.

Brutschrank: 17 Stunden.

50°:

1. 128,5 ccm = 95,9 %
2. 127,5 „ = 95,1 %

Zimmertemperatur:

1. 128,4 ccm = 95,8 %
2. 128,4 „ = 95,8 %

Wiederholung des Versuchs. Brutschrank: 18 Stunden.

50°:

1. 128,6 ccm = 96,0 %
2. 128,5 „ = 95,9 %

Zimmertemperatur:

1. 129,1 ccm = 96,3 %
2. 129,4 „ = 96,6 %

In einem anderen Versuche wurde die Wirksamkeit der Urease sofort nach der Mischung mit Papayotin verglichen mit der Ureasewirkung nach 3 stündiger Papayotineinwirkung bei 50°.

1 g Soja-Fermentpulver werden mit 0,3 g Papayotin und 60 ccm Aq. dest. gemischt. Es werden zwei Proben à 5 ccm sofort untersucht, der Rest 3 Stunden auf 50° erwärmt, dann wieder zwei Proben à 5 ccm angesetzt.

Vor der Erwärmung. Brutschrank: 19 Stunden.

1. 110,6 ccm = 82,5 %
2. 111,0 „ = 83,6 %

Nach der Erwärmung auf 50°. Brutschrank: 19 Stunden.

1. 66,4 ccm = 49,5 %
2. 68,2 „ = 50,9 %

Wiederholung des Versuches: 2,5 g Soja + 0,5 g Papayotin + 100 Aq. dest. — Zu jeder Probe werden je 15 ccm verwandt.

Vor der Erwärmung. Brutschrank: 18 Stunden.

1. 126,1 ccm = 94,1 %
2. 126,1 „ = 94,1 %

Nach der Erwärmung. Brutschrank: 18 Stunden.

1. 124,6 ccm = 92,2 %
2. 125,2 „ = 93,4 %

1 g Sojaferment wird mit 0,2 g Papayotin und 40 ccm Aq. dest. gemischt. Davon werden 20 ccm für 2 Stunden auf 40° erwärmt, der Rest bleibt bei Zimmertemperatur. Untersucht werden Anteile à 5 ccm. Brutschrank: 18 Stunden.

40°:

1. 100,5 ccm = 75,0 %
2. 100,2 „ = 74,8 %

Zimmertemperatur:

1. 111,4 ccm = 83,1 %
2. 112,5 „ = 83,9 %

Wiederholung des Versuches. Brutschrank: 21 Stunden.

40°:

1. 100,7 ccm = 75,1 %
2. 100,1 „ = 74,7 %

Zimmertemperatur:

1. 110,3 ccm = 82,9 %
2. 109,4 „ = 81,6 %

Wiederholung des Versuches. Brutschrank: 21 Stunden.

40°:

1. 106,7 ccm = 79,6 %
2. 107,2 „ = 80,0 %

Zimmertemperatur:

1. 113,4 ccm = 84,6 %
2. 114,2 „ = 85,2 %

Endlich haben wir in einer größeren Anzahl von Versuchen studiert, wie sich das Sojaferment gegenüber der Vereinigung von Papayotinverdauung und gleichzeitiger Dialyse verhält. Die Resultate fielen so gleichmäßig aus, daß wir nur einige Beispiele herausgreifen wollen.

4,5 g Soja-Fermentpulver werden mit 0,9 g Papayotin und 180 ccm Aq. dest. gemischt. Von dem Gemisch werden 2 mal 5 ccm auf Ureasewirkung geprüft. Gleichzeitig werden zwei Portionen à 15 ccm auf ihren Gehalt an incoagulablen Stickstoff untersucht. Dazu werden je 15 ccm mit 15 ccm Wasser verdünnt und vorsichtig zum Sieden erhitzt, dann

werden drei Tropfen verdünnter Essigsäure zugefügt. Nach dem Abfiltrieren der reichlichen Niederschläge erhält man klare Filtrate (27,5 und 28 ccm). Von diesen Filtraten werden je zwei Portionen à 10 auf den Gesamt-N nach Kjeldahl untersucht. — In zwei Portionen des ursprünglichen Gemisches à 5 ccm wird direkt der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl bestimmt. — Ferner werden 9 mal 6 ccm des Gemisches in neun Schleicher-Schüllschen Dialysierhülsen nach Toluolzusatz zur Dialyse angesetzt, die Außenflüssigkeit wurde 8 mal gewechselt. Von der Innenflüssigkeit wurden zwei Portionen à 5,7 ccm auf Ureasewirkung geprüft. Zwei andere Portionen à 15 ccm wurden wie bei dem ursprünglichen Gemische auf den incoagulablen Stickstoff verarbeitet. Außerdem werden auch von der durch Dialyse gereinigten Flüssigkeit zwei Anteile à 5 ccm auf den Gesamtstickstoff verarbeitet.

Zum Vergleich wurde der Rest des ursprünglichen Gemisches (ca. 70 ccm) mit Toluol 24 Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Auch von dieser Flüssigkeit werden die entsprechenden, gleichen Anteile auf Urease, incoagulablen und Gesamtstickstoff verarbeitet.

Der Kürze halber geben wir von den immer gut stimmenden Analysen (zwei resp. vier) Mittelwerte und drücken alles in Prozenten aus.

5 ccm der Originalmischung setzen 90,7 % des zugesetzten Harnstoffs um.

100 ccm der Originalmischung enthalten:

0,264 g N
davon 0,051 „ Eiweiß-N = 19,4 %
0,213 „ incoag. N = 86,6 %

5,7 ccm (= 5 ccm der Orig.-Mischung) der dialysierten Mischung setzen 47,8 % Harnstoff um.

100 ccm der dialysierten Mischung enthalten:

0,169 g N
davon 0,070 „ Eiweiß-N = 41,3 %
0,099 „ incoag. N = 58,7 %

5 ccm der 24 Stunden als Kontrolle neben der dialysierten Mischung aufbewahrten Mischung setzen 64,9 % Harnstoff um.

100 ccm dieser Mischung enthalten:

0,261 g N
davon 0,054 „ Eiweiß-N = 20,4 %
0,207 „ incoag. N = 79,6 %

---

5 ccm Originalmischung setzen 92,7 % Harnstoff um.

100 „ „ enthalten: 0,260 g N
davon 0,058 „ Eiweiß-N = 22,6 %
0,202 „ incoag. N = 77,4 %

5,8 ccm (= 5,0 ccm der Orig.-Mischung) der dialysierten Mischung setzen 50,4 % Harnstoff um.

100 ccm der dialysierten Mischung enthalten:

0,154 g Eiweiß-N
davon 0,025 „ „ N = 16,4 %
0,129 „ incoag. N = 83,6 %

5 ccm der Kontrolle setzen 70,7 % Harnstoff um.

100 „ „ „ enthalten: 0,262 g N
davon 0,060 „ Eiweiß-N = 21,4 %
0,202 „ incoag. N = 78,6 %

---

5 ccm Originalmischung setzen 93,9 % Harnstoff um.

100 „ „ enthalten:

0,2496 g N
davon 0,0533 „ Eiweiß-N = 20,9 %
0,1963 „ incoag. N = 79,1 %

5 ccm der 2 Stunden auf 40° erwärmten Originalmischung setzen 85,4 % Harnstoff um.

100 ccm dieser Mischung enthalten: 0,252 g N
davon 0,046 „ Eiweiß-N = 18,3 %
0,206 „ incoag. N = 81,7 %

5,9 ccm der nach dem Erwärmen dialysierten Mischung setzen 37,2 % Harnstoff um.

100 ccm dieser Mischung enthalten: 0,147 g N
davon 0,059 „ Eiweiß-N = 40,10 %
0,088 „ incoag. N = 59,9 %

5 ccm der Kontrolle setzen 70,9 % Harnstoff um.

100 „ „ „ enthalten: 0,251 g N
davon 0,043 „ Eiweiß-N = 17,1 %
0,208 „ incoag. N = 82,9 %

Die Deutung dieser Versuchsreihe ist nicht so einfach, wie es auf den ersten Blick scheinen könnte. Sicher ist, daß eine Schädigung der Urease durch Einwirkung von Papayotin nicht eintritt, die Wirkungsabnahme wird auch ohne Fermentzusatz in der gleichen Versuchszeit beobachtet. Dagegen tritt bei der Dialyse der Soja-Papayotingemische stets eine erhebliche Abnahme der Ureasewirkung auf. Anscheinend

geht diese Abnahme der Ureasewirkung mit einer Abnahme des incoagulablen Stickstoffs parallel und das könnte so gedeutet werden, daß durch die Dialyse Auxosubstanzen entfernt werden, die sich wie die als Auxosubstanzen der Urease von Jacoby und Umeda erkannten Aminosäuren verhalten. Daß die Soja-Urease ohne Papayotinzusatz durchaus nicht durch Dialyse geschädigt wird, haben wir durch besondere Versuche ausdrücklich festgestellt. Jedoch lassen die Versuche eine kompliziertere Deutung als die obige zu, weil nach den Feststellungen von Delezenne und von F. Sachs das Papayotin beim Aufkochen in dem Moment, in dem es die Temperatur von etwa 80° erreicht, eine brüske Eiweißverdauung auslöst. Durch diese Wirkung und andere von F. Sachs dabei beobachtete Phänomene wird die Deutung der Versuche etwas erschwert.

Über die Abhängigkeit der Komplementzerstörung von der Anwesenheit des Sauerstoffs.

Von

Martin Jacoby und Margarete Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 5. Dezember 1914.)

Die von Jacoby und Schütze[1]) entdeckte Schüttelinaktivierung des Komplementes hat eine umfangreiche Bearbeitung gefunden, wobei sich eine Reihe chemischer, physikalischer und biologischer Probleme ergeben haben.

Literatur.

Wir stellen hier nur die wesentlichsten Beobachtungen zusammen. Jacoby und Schütze fanden, daß das hämolytische Komplement des Meerschweinchenserums durch $1^1/_2$ stündiges Schütteln bei Brutschranktemperatur inaktiviert wird. Beim Schütteln trübt sich das Serum und scheidet einen Niederschlag ab. Das geschüttelte Serum enthielt trotz seiner Inaktivität die beiden damals bekannten Komponenten des Komplementes, das sogenannte Mittelstück und das Endstück. Ritz[2]) hat in Sachs Laboratorium das Phänomen einer sorgfältigen Analyse unterworfen. Dabei stellte sich heraus, daß die von Jacoby und Schütze angewandten Versuchsbedingungen opti-

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. **1909**, Nr. 48, u. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **4**, 1910.

[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **15**, 1912.

male waren. Von Bedeutung für den Schütteleffekt ist das Verhältnis zwischen Rauminhalt der Schüttelflasche und der Menge der geschüttelten Flüssigkeit und die Konzentration des geschüttelten Serums, die bei 10facher Verdünnung optimal ist. Ritz fand wie Jacoby und Schütze im Schüttelserum Mittelstück und Endstück erhalten und erörterte deshalb die Möglichkeit, daß vielleicht die inzwischen entdeckte 3. Komponente des Komplementes durch die Schüttelwirkung außer Funktion gesetzt wird. Da die Verhältnisse jedoch ziemlich kompliziert liegen, so konnten Ritz nicht und ebensowenig Kashiwabara[1]), der gleichzeitig in Jacobys Laboratorium diesen Punkt untersuchte, darüber zu vollkommener Sicherheit gelangen. Kashiwabara fand ferner, daß bei isolierter Schüttelung der Mittelstück- und Endstückfraktion die vereinigten Fraktionen inaktiv sind. Es scheint also jedenfalls ein vom Endstück und Mittelstück unterscheidbarer Serumbestandteil durch das Schütteln inaktiviert zu werden.

Betreffen die bisher referierten Untersuchungen die Bedingungen und namentlich den Effekt der Schüttelinaktivierung, so wären jetzt Versuche zu erwähnen, die den chemischen und physikalischen Mechanismus des Phänomens aufzuklären versuchten. Jacoby und Schütze sowie Ritz hatten erwogen, ob Alkalescenzverhältnisse maßgebend sein könnten, ohne jedoch greifbare Anhaltspunkte zu erhalten. Es ist das Verdienst von Courmont und Dufourt[2]), experimentell geprüft zu haben, ob Schüttelinaktivierung von der Gegenwart des Sauerstoffs abhängig ist. Ihre nur kurz wiedergegebenen Resultate wurden jedoch von Schmidt und Liebers[3]) durchaus bestritten. Schmidt und Liebers leugnen vollkommen den Einfluß des Sauerstoffs und suchen das Wesen der Erscheinung in der von Jacoby und Schütze zuerst beobachteten und von ihnen bestätigten Schütteltrübung. Bei der Schüttelung kommt es zu einer Ausflockung der Globuline, die das Komplement absorbieren und so inaktivieren. Endlich fanden L. Hirsch-

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **17**, 1913.

[2]) Compt. rend. Soc. Biol. **72**, 1912.

[3]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **19**, 1913.

feld und R. Klinger[1]) die interessante Tatsache, daß Schüttelserum positive Wassermannsche Reaktion gibt, was sie durch Labilisierung der Serumkolloide erklären.

Anknüpfend an ältere Untersuchungen unseres Laboratoriums haben wir auch eine größere Anzahl von Versuchen über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Schüttel-Inaktivierung angestellt. Diese Beobachtungen haben zu einem klaren Ergebnis geführt, indem es durch genaue Berücksichtigung der experimentell wichtigen Bedingungen gelungen ist, den Widerspruch zwischen den Angaben von Courmont und Dufourt und den entgegengesetzten Behauptungen von Schmidt und Liebers aufzuklären.

Um den Einfluß des Sauerstoffs auf die Schüttelaktivierung des Komplementes zu prüfen, haben wir zwei Methoden angewandt. In mehreren Versuchsreihen haben wir den Sauerstoff durch Pyrrogallol beseitigt, in anderen haben wir ihn durch Wasserstoff verdrängt. Da die Pyrrogallolversuche weniger klare Resultate ergaben, so beschränken wir uns hier darauf, die Wasserstoffversuche ausführlich zu schildern, da sie ganz eindeutige Resultate lieferten.

Allgemeine Versuchsanordnung.

Meerschweinchenblut wird aus der Carotis entnommen, das Serum wird mit 0,85%iger Kochsalzlösung auf das Zehnfache verdünnt. Von dem verdünnten Serum werden Anteile von je 10 ccm in sog. Kochsche Kölbchen von 100 ccm Inhalt gefüllt. Die Kölbchen sind mit doppelt durchbohrtem Gummistopfen versehen, durch die ein langes und ein kurzes Glasrohr zur Gasdurchleitung geführt ist.

Wasserstoff wird aus Zink und verdünnter Schwefelsäure unter Zusatz von etwas Kupfersulfat in der üblichen Weise entwickelt und zunächst durch eine Waschflasche mit destilliertem Wasser geleitet. Vor und hinter jedem Serumkolben befinden sich zwei Gummizwischenstücke mit Klemmen, zwischen den Gummischläuchen Glasverbindungen. Bei Beendigung der Gasdurchleitung werden zunächst alle Klemmen sorgfältig verschlossen und dann außerdem die Glasröhrchen zugeschmolzen. So wird ein mehrfacher Schutz gegen das Eindringen von Luft erreicht.

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 21, 1914.

Die Verbindung der Serumkölbchen mit dem Gasentwicklungskolben und der Waschflasche wird erst hergestellt, nachdem die Gasentwicklung einige Minuten im Gange und so die Luft ausgetrieben war. Es wird darauf geachtet, daß die Gasentwicklung während der ganzen Versuchsdauer möglichst gleichmäßig — weder zu langsam noch zu kräftig — vor sich geht. Alle Kölbchen nebst Zubehör werden vor dem Versuch sterilisiert.

Nach Beendigung der Gasdurchleitung werden die Kölbchen zusammen mit der Kontrolle, die inzwischen auf demselben Tische bei der gleichen Temperatur gestanden hatte, im Schüttelapparate 1$^1/_2$ Stunden bei 37° geschüttelt.

Der Schüttelapparat war vorher genau darauf geprüft worden, daß er bei richtig ausgeglichener Belastung alle gleichartig geschüttelten Kölbchen gleich stark schüttelt. Immer wurden je 2 Kolben gegenüber angebracht; wenn der Versuch nur 3 Kolben erforderte, wurde ein vierter zum Ausgleich der Belastung mitgeschüttelt.

In dem gleichen Schrank, in dem geschüttelt wurde, beließen wir während der ganzen Schüttelzeit noch ein Gefäß mit Serum, das nicht geschüttelt wurde, so daß nirgends Temperaturunterschiede zwischen den Serumportionen desselben Versuches möglich waren.

Nach Schluß der Schüttelung wurde das Serum mit Amboceptor und Blutkörperchen in den üblichen Reihen angesetzt. Verwandt wurde 1 ccm 5%iger Blutkörperchenbrei, der Amboceptor wurde vorher auf Wirksamkeit geprüft. Die Verdünnung jedes Röhrchens betrug stets 3,5 ccm.

Versuch 1.

Geschüttelt nach 2 Stunden H-Durchleitung	Nur geschüttelt	Normalserum
0,2 keine Hämolyse 0,3—0,4 geringe Hämolyse 0,5 inkompl. Hämolyse 0,6—0,9 fast kompl. Hämolyse 1,0 kompl. Hämolyse	0,1—0,8 keine Hämolyse 0,9—1,0 Spur Hämolyse	0,1—0,3 fast kompl. Hämolyse 0,4 kompl. Hämolyse

Versuch 2.

Geschüttelt nach 2 Stunden H-Durchleitung	Nur geschüttelt	Normalserum
0,1 Spur Hämolyse 0,2 geringe „ 0,3 inkompl. „ 0,4—1,0 fast kompl. Hämolyse	0,1—1,0 keine Hämolyse	0,1 fast kompl. Hämolyse 0,2 kompl. Hämolyse

Versuch 3.

Geschüttelt nach 2 Stunden H-Durchleitung	Nur geschüttelt	Normalserum
0,1—0,3 keine Hämolyse 0,4 Spur Hämolyse 0,5—0,6 geringe Hämolyse 0,7—0,8 inkompl. Hämolyse 0,9—1,0 fast kompl. Hämolyse	0,1—1,0 keine Hämolyse	0,3 fast kompl. Hämolyse 0,4 kompl. Hämolyse

Anderthalb Stunden Wasserstoffdurchleitung scheint nicht mit Sicherheit auszureichen, während 3 Stunden vielleicht schon durch die zu lange Versuchszeit Komplikationen bedingt. Daß man bei 2 Stunden immer klare Resultate erhält, geht auch noch aus weiteren Versuchen hervor und ist auch aus den später beschriebenen Experimenten zu ersehen.

Nach genügend langer und kräftiger Durchleitung von Wasserstoff ist die Schüttelung also nicht mehr imstande, das Komplement zu inaktivieren. Um den Einfluß des Sauerstoffs klar zu demonstrieren, müssen außer der genügend intensiven Wasserstoffdurchleitung noch einige andere Punkte genügend berücksichtigt werden. Man muß wissen, daß die Größe der Gefäße, in denen die Serumteile sich befinden, ausreichend sein müssen, da sonst der Schütteleffekt unsicher und unregelmäßig ist. Aus den knappen Angaben von Courmont und Dufourt ist nicht zu entnehmen, ob die hier liegenden Fehlerquellen vermieden worden sind. Zum Teil ist wohl der große Innenraum der Schüttelgefäße notwendig, um den ausreichenden Sauerstoff für die Schüttelwirkung zu beschaffen. Damit stimmt überein, daß nach Courmont und Dufourt Sauerstoffzufuhr die Schüttelwirkung verstärkt. Wieso Schmidt und Liebers sich von der Bedeutung des Sauerstoffs nicht überzeugt haben, läßt sich natürlich nicht mit Bestimmtheit sagen. Wir sind geneigt anzunehmen, daß sie nicht lange genug den Wasserstoff durchgeleitet haben.

Während man den Sauerstoff energisch entfernen muß, um den Schütteleffekt unwirksam zu machen, kann man umgekehrt das Serum, aus dem der Sauerstoff verdrängt ist, einige Zeit lüften, ohne daß nachher das Serum durch Schütteln inakti-

viert wird. Die nun zu schildernden Versuche, die das zeigen, sind so angeordnet, daß sie gleichzeitig auch noch Bestätigungen der ersten Versuchsreihe darstellen.

Versuch 4.

Geschüttelt nach 2 Stunden H-Durchleitung	Vor dem Schütteln nach der 2stündigen H-Durchleitung 1/2 Minute unter Schütteln geöffnet	Nur geschüttelt	Normalserum
0,1—0,4 fast komplette Hämol. 0,5 kompl. Hämolyse	0,1 keine Hämolyse 0,2 geringe „ 0,3 inkompl. „ 0,4—0,6 fast kompl. Hämolyse 0,7—1,0 kompl. Hämolyse	0,1—0,6 keine Hämolyse 0,7—0,8 Spürchen Hämol. 0,9—1,0 Spur Hämolyse	0,1 fast kompl. Hämolyse 0,2 kompl. Hämolyse

Versuch 5.

Geschüttelt nach 2 Stunden H-Durchleitung	Vor dem Schütteln nach d. 2stündigen H-Durchleitung 2 Min. unter Umschütteln geöffnet	Nur geschüttelt	Nur geschüttelt	Normalserum
0,1 keine Hämolyse 0,2 geringe Hämolyse 0,3—0,4 inkompl. H. 0,5—1,0 fast kompl. H.	0,1 keine Hämolyse 0,2 Spürchen Hämolyse 0,3 geringe Hämolyse 0,4—0,5 inkomplette Hämol. 0,6—1,0 fast kompl. Häm.	0,1—0,5 keine Hämolyse 0,6—1,0 Spürchen Häm.	0,1—0,4 keine Hämolyse 0,5—0,7 Spürchen Häm. 0,8—1,0 Spur Hämolyse	0,1 geringe Hämolyse 0,2—0,3 inkompl. Hämolyse 0,4—0,5 fast kompl. Hämolyse

Dieselben Resultate sind auch in weiteren Versuchen immer wieder erhalten worden, wenn alle Bedingungen sorgfältig beachtet wurden.

Während also der Sauerstoff sehr energisch aus dem Serum verdrängt werden muß, um die Schüttelinaktivierung unmöglich zu machen, ist das einmal vom Sauerstoff befreite Serum sehr stabil gegen die Schütteleinwirkung. Diese Stabilität läßt sich mindestens zum Teil wohl so erklären, daß die notwendige Sauerstoffmenge auch nicht momentan ausreichend in das Medium des Komplementes gelangt. Man muß aber auch die Möglichkeit erwägen, daß das Komplement in sauerstoffarmem Milieu in eine stabile Modifikation übergeht.

Für die Chemie und biologische Wertung des Komplementes ist es jedenfalls von erheblichem Interesse, daß der Sauerstoff bei der Zerstörung dieser so labilen Substanz eine so ausschlaggebende Rolle spielt. Ohne Zweifel wird diese nunmehr sicher festgestellte Tatsache noch vielfach zur Erklärung physiologischer und pathologischer Vorgänge herangezogen werden müssen.

Vielleicht lassen sich die Beobachtungen auch praktisch verwerten, indem man versucht, das Komplementserum in Wasserstoff-Atmosphäre zu konservieren. Ziemlich zahlreiche Versuche in dieser Richtung haben uns jedoch bisher noch nicht zu eindeutigen Ergebnissen geführt. Man kann nämlich steril gewonnene Sera in der Kälte und im Dunkeln in vollen Flaschen auch ohne Wasserstoffeinwirkung leidlich einige Zeit ohne starke Komplementzerstörung in flüssigem Zustande konservieren, so daß wir nicht mit Sicherheit entscheiden konnten, ob die Verdrängung des Sauerstoffs die Konservierung erleichterte.

Über die Aktivierung der Soja-Urease durch menschliches Serum.

Von

Rudolf Neumann.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 5. Dezember 1914.)

Nach den Untersuchungen von Jacoby und Umeda ist die von M. Falk im hiesigen Laboratorium zuerst festgestellte Auxowirkung tierischer Seren auf die Urease der Sojabohne im Serum verschiedener Tiere und auch des Menschen nachweisbar. Ich habe nun geprüft, ob bei einzelnen menschlichen Individuen (gesunden und kranken) sich größere Unterschiede in bezug auf diese Serumwirkung nachweisen lassen. Außer Serum wurden auch andere Körperflüssigkeiten auf ihre auxoureatische Wirksamkeit hin geprüft.

Methodisch ging ich ganz so vor, wie auch sonst bei uns Ureaseprüfungen ausgeführt wurden und wie es in den Arbeiten von Falk, Jacoby und Umeda, Jacoby und Sugga beschrieben worden ist.

Stets wurden für jede Probe 10 ccm einer frisch bereiteten 0,3 %igen Lösung desselben Sojafermentpulvers verwandt. Es ist dieselbe Fermentdarstellung, die auch zu den Versuchen von Jacoby und Umeda diente. Ferner kamen in jeden Kolben 20 ccm Harnstoff (2 %ig), 1 ccm Toluol und 1 ccm Olivenöl. Das Serum wurde in den Kontrollen durch die gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung ersetzt.

Die Fermenteinwirkung wurde meistens 21 Stunden im Brutschrank bei 38° vorgenommen, die Ammoniakbestimmung geschah, wie in den vorher erwähnten Arbeiten, mit Hilfe von Dampfdestillation. Fast immer wurden Doppelbestimmungen ausgeführt.

Das Blut wurde aus der Armvene, meist morgens nach dem ersten Frühstück, entnommen. Das Serum wurde daraus durch Absetzenlassen und Zentrifugieren gewonnen. Meist wurde das Serum noch an demselben Tage angesetzt, doch es büßt, wie Versuche gezeigt haben, auch nach mehrtägigem Aufbewahren im Eisschrank nicht an Wirksamkeit ein.

Bezüglich der Kontrollen sei bemerkt: In der ersten Zeit wurden sämtliche Kombinationen, die möglich sind, wiederholt angesetzt: nämlich Harnstoff mit Serum, sowie Serum mit Sojalösung. Die folgende Tabelle ergibt die verschiedenen möglichen Kontrollen:

Tabelle I.
Brutschrankzeit 21 Stunden.

Nummer	2%ige Harnstofflösung ccm	Normalserum ccm	Phys. Kochsalzlösung ccm	Sojalösung ccm	Aq. dest. ccm	Resultat in n/10-Säure Doppelbestimmungen	Mittelwert
1	20	2	—	—	10	1,3	1,2
2	20	2	—	—	10	1,1	
3	—	2	—	10	20	1,0	0,9
4	—	2	—	10	20	0,8	
5	20	—	2	10	—	9,8	10,0
6	20	—	2	10	—	10,3	

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß Serum mit Harnstoff und Serum mit Soja nur ganz minimale Mengen Ammoniak, die um 1,0 herum schwanken, ergibt. Diese Werte liegen völlig im Bereich der Fehlergrenzen. Dagegen wird beim Zusammenbringen von Soja mit Harnstoff ungefähr 10 mal soviel Ammoniak frei. Die Werte liegen hier um 10,0 herum. Die ersten beiden Kontrollen wurden bei den späteren Versuchen weggelassen, dagegen lief stets bei allen Versuchsreihen eine Kontrolle Harnstoff-Soja mit, um einen Vergleich mit der durch Serum gesteigerten Fermentwirkung zu haben. Das Serum wurde bei diesen Kontrollen durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Die Werte liegen bei den gebrauchten Mengen Harnstoff und Soja sowie 2 ccm Kochsalzlösung zwischen einem Minimum von 6,4 und einem Maximum von 11,8.

Tabelle II.
20 ccm Harnstoff (2%), Brutschrankzeit 21 Stunden.

Nummer	Normalserum ccm	Phys. Kochsalzlösung ccm	0,3%ige Sojalösung ccm	Resultat Doppelbestimmungen	Mittelwert
1	—	2	10	—	10,2
2	—	2	10	10,2	
3	2	—	10	87,2	87,3
4	2	—	10	87,4	
5	2	—	—	1,7	1,65
6	2	—	—	1,6	

Tabelle II gibt nun einen Normalversuch mit doppelten Kontrollen wieder. Das Serum stammte von einem gesunden Individuum. Es tritt hier sofort die mächtige steigernde Wirkung des Serums auf die Soja-Urease hervor, die mehr als das 8 fache der einfachen Ureasewirkung ausmacht (87,3 : 10,2). Die Kontrolle Harnstoff-Serum ohne Urease ergibt wieder minimale Werte.

Tabelle III.

20 ccm Harnstoff (2%), 10 ccm Soja (0,3%), Brutschrankzeit 22 Stunden.

Nummer	Normalserum ccm	Phys. NaCl-Lösung ccm	Resulat
1	—	4,0	6,15
2	0,1	3,9	37,6
3	0,5	3,5	76,9
4	1,0	3,0	79,9
5	2,0	2,0	81,2
6	4,0	—	81,8

Es wurde hier mit variierenden Serummengen gearbeitet, um vielleicht ein Optimum zu finden. Wie aus dem Versuch hervorgeht, steigt die Kurve zunächst steil an, um dann nur noch in sanfter Steigung weiterzulaufen. Während 0,1 ccm Serum schon eine sehr kräftige Wirkung entfaltet, besteht zwischen 0,5 und 4 ccm Serum kein großer Unterschied der Wirksamkeit. In meinen weiteren Versuchen wendete ich stets 2 ccm Serum an, es hätten aber auch schon 0,5 ccm vollauf genügt.

Tabelle IV.

20 ccm Harnstoff (2%), 10 ccm Soja (0,3%), 2 ccm Normalserum.

Nummer	Brutschrankzeit Stunden	Resultat
1	2	14,4
2	4	26,6
3	6	35,9
4	8	43,7
5	11	57,5

In der vorstehenden Tabelle IV wurde der Versuch nach verschieden langer Bebrütung unterbrochen. Es ergibt sich aus ihm, daß die Menge des zersetzten Harnstoffes mit der Zeit ansteigt. Ich wählte für meine Versuche meist 21 Stunden, hauptsächlich aus Bequemlichkeitsgründen, es hätte auch eine beliebige andere Zeit gewählt werden können.

Tabelle V.

20 ccm Harnstoff, 10 ccm Soja (0,3 %), Brutschrankzeit 21 Stunden.

Nummer	Normalserum ccm	Phys. Kochsalzlösung ccm	Resultat Doppel-bestimmungen	Resultat Mittel-wert
1	—	2	9,1	9,45
2	—	2	9,8	
3	2 inaktiviert	—	80,6	80,6
4	2 „	—	—	
5	2 aktiv	—	77,8	77,85
6	2 „	—	77,9	

Nr. 3 und 4: Serum ½ Stunde bei 56° inaktiviert.

Tabelle V zeigt, daß auch inaktiviertes Serum — ½ Stunde bei 56° — eine sehr starke Auxowirkung besitzt, die in diesem Versuche sogar um ein geringes die Wirkung des aktiven Serums übersteigt.

Auch getrocknetes Serum und mehrere Tage im Eisschrank aufbewahrtes Serum verliert nicht an Wirksamkeit bezüglich der Ureaseverstärkung, wie besondere, hier nicht aufgeführte Versuche beweisen.

In der folgenden Tabelle VI sind nun 25 Seren verschiedener Krankheitszustände angeführt.

Tabelle VI.

Bei allen, im folgenden aufgeführten Seren wurden die genau gleichen Versuchsbedingungen eingehalten: in jedem Kolben befanden sich: 1 ccm Olivenöl, 1 ccm Toluol, 20 ccm einer 2%igen Harnstofflösung, 2 ccm Serum, 10 ccm 0,3%iger Sojalösung, die in dieser Reihenfolge eingefüllt wurden. Die Brutschrankdauer betrug stets 21 Stunden. In der folgenden Tabelle sind deshalb nur die Diagnosen der untersuchten Sera und die Resultate der Doppelbestimmungen, sowie der Mittelwert aus diesen angeführt. Das Serum ist mit wenigen Ausnahmen morgens nach dem ersten Frühstück entnommen. — In jeder angesetzten Versuchsreihe befand sich eine Kontrolle mit Kochsalzlösung statt Serum; die Zahlen hierfür liegen, wie schon vorher angeführt, zwischen 6,4 und 11,8.

Nummer	Klinische Diagnose	Resultat Doppel-bestim-mungen	Resultat Mittel-wert
1	Perniziöse Anämie	81,5 80,7	81,1
2	Typhus abdominalis	80,2 79,9	80,05
3	Carcinoma ventriculi	81,9 81,75	81,82

Tabelle VI (Fortsetzung).

Nummer	Klinische Diagnose	Resultat	
		Doppelbestimmungen	Mittelwert
4	Carcinoma uteri	82,8 83,1	82,95
5	Carcinoma uteri	79,7 82,0	80,85
6	Carcinoma pulmon.	81,55 80,75	81,15
7	Phthisis pulmon.	78,5 —	78,5
8	Phthisis pulmon.	82,8 82,4	82,6
9	Myeloide Leukämie	82,6 82,8	82,7
10	Diabetes gravis	80,5 —	80,5
11	Vitium cordis decompens.	78,7 81,9	80,3
12	Insufficientia valv. mitral.	81,0 81,8	81,4
13	Insuff. valv. Aortae u. Lues cerebrospin.	80,4 79,7	80,05
14	Tabes dorsalis	82,6 81,5	82,05
15	Nephritis chronica	79,6 81,2	80,4
16	Nephritis chronica	81,8 81,6	81,7
17	Nephritis chronica	81,2 82,7	81,95
18	Icterus durch Steinverschluß	82,1 80,9	81,5
19	Icterus infolge Carcinoma hepatis	84,5 83,8	84,15
20	Myoma uteri (Mediastinaltumor?)	83,6 83,4	83,5
21	Eklampsie	82,6 80,0	81,3
22	Gravidität	85,1 81,4	83,25
23	Normalserum	81,3 83,4	82,35
24	Normalserum	82,1 80,2	81,15
25	Phthisis pulmon.	82,7 81,3	82,0

Es geht aus den erhaltenen Ammoniakwerten hervor, daß sämtliche Sera eine sehr starke Auxoureasewirkung besitzen, die ungefähr das 8 fache der einfachen Ureasewirkung ausmacht. Dagegen stellte sich keine nennenswerte Differenz bei

den verschiedenen Sera heraus, sondern es findet sich eine seltene Regelmäßigkeit und Konstanz der Sera in ihrem Gehalte an auxoureatischer Substanz. Die Erwartung, daß man mittels dieser Methode vielleicht differential-diagnostische Unterschiede erhalten könnte, hat sich demnach nicht bestätigt. Immerhin ist diese auxoureatische Eigenschaft des menschlichen Serums und die Gesetzmäßigkeit der Wirkung eine neue, interessante Tatsache.

Neben Serum prüften wir nun, wie die folgenden Tabellen VII und VIII dartun, noch einige andere Körperflüssigkeiten auf ihren Auxoureasegehalt.

Tabelle VII.

Nummer	Untersuchte Flüssigkeit	Klinische Diagnose	Resultat Doppelbestimmungen	Resultat Mittelwert
1	Pleurapunktat 2 ccm	Pleuritisexsudat (Spez. Gew. 1013 (Tbc.?) . .	76,2 78,0	77,1
2	Pleurapunktat 2 ccm	Pleuritisexsudat nach Pneumonie	79,9 80,6	80,25
3	Pleurapunktat 2 ccm	Pleuritisexsudat bei Lungentumor	81,6 80,2	80,9
4	Pleurapunktat 2 ccm	Transsudat bei dekompens. Aorteninsuffiz. .	77,8 —	77,8
5	Ascites 2 ccm	Ascites bei Lues hepatis	52,4 53,1	52,75

Tabelle VIII.

Nummer	Untersuchte Flüssigkeit 2 ccm	Klinische Diagnose	Resultat Doppelbestimmungen	Resultat Mittelwert
1	Lumbalpunktat	Meningitis tuberculosa .	13,6 11,7	12,65
2	Lumbalpunktat	Paralysis progressiva . .	9,5 9,9	9,7
3	Lumbalpunktat	Lues cerebrospinalis . .	8,0 8,2	8,1
4	Lumbalpunktat	Tabes dorsalis	9,1 9,3	9,2
5	Lumbalpunktat	Traumat. Neurose . . .	8,5 8,25	8,37
6	Lumbalpunktat	Lues cerebrospinalis . .	11,8	11,8

Es ergibt sich also, daß Pleurapunktate ziemlich ebenso wirksam wie Serum sind, während der untersuchte Ascites bedeutend

kleinere Werte aufweist. Es ist wahrscheinlich, daß der Gehalt der Flüssigkeit an Serum den Grad der Wirkung bestimmt. Die Lumbalpunktate erwiesen sich mit Ausnahme des Falles von Meningitis tuberculosa, wo eine geringe Steigerung vorhanden war, kaum als fermentsteigernd. Die Zahl der untersuchten Fälle ist jedoch zu gering, um endgültige Schlüsse ziehen zu können, vielleicht muß man hier auch mit größeren Mengen arbeiten. Es ist leicht möglich, daß dann Meningitisfälle, wo ja eine stärkere entzündliche Exsudation stattfindet, noch höhere Werte ergeben, die differential-diagnostische Bedeutung gewinnen könnten. Die Versuche sollen in dieser Richtung sowie auch noch in anderer Beziehung fortgesetzt werden.

Zusammenfassung.

Menschliches Serum verstärkt die harnstoffspaltende Wirkung der Sojaurease ganz bedeutend, ungefähr um das 8fache. Quantitative Unterschiede bezüglich dieser auxoureatischen Wirkung ließen sich bei Seren der verschiedensten Krankheitszustände nicht feststellen, sondern es herrscht eine ganz gesetzmäßige Konstanz des Auxosubstanzgehaltes.

Pleurapunktate zeigen fast dieselbe Wirksamkeit wie Serum Lumbalpunktate sind unwirksam, den höchsten Wert zeigte ein Fall von tuberkulöser Meningitis.

Das (serologisch faßbare) Eiweiß des Honigs stammt von der Biene (Langer) und nicht aus dem Blütenstaube (Küstenmacher).

Von

Joseph Langer, Graz.

(Eingegangen am 8. Dezember 1914.)

In seiner Publikation „Die Chemie der Honigbildung" im 30. Bande dieser Zeitschrift behauptet Küstenmacher unter anderem, daß das im Bienenbrote — mit diesem Namen haben die Bienenzüchter den im Wachsbaue vorfindlichen Blütenstaub belegt — und im Honig vorkommende Eiweiß aus dem Pollen stammt; mit dieser Annahme tritt Küstenmacher meinen Untersuchungsergebnissen entgegen.

Unter Zuhilfenahme der biologischen Eiweißdifferenzierung habe ich im Jahre 1902 zuerst den Beweis erbracht und in einer zusammenfassenden Arbeit im Jahre 1909[1]) in ausführlicher Weise mitgeteilt, daß im Honig und Bienenbrote sich Eiweißkörper finden, die sich auch in der Biene nachweisen lassen. Als Quelle dieses Bieneneiweißes im Honig und Bienenbrot bezeichnete ich den Speichel der Biene, der beim Sammeln von Nektar und Blütenstaub in diese beiden Naturprodukte gelangt und bei ihrer Weiterverarbeitung im Stocke noch eine Konzentrierung erfährt. Küstenmacher schreibt nun (Seite 243):

„Den Irrtum Langers, daß das Eiweiß durch den Speichel der Biene in das Bienenbrot gelangt wäre, brauche ich hier nicht zu widerlegen, da ich schon anderen Ortes gezeigt habe, welche Hauptbestandteile sich im Pollen, d. h. im Spermatoplasma, befinden, die nicht erst mit dem Speichel hineingelangen. Außerdem habe ich den Beweis auch direkt erbracht, und somit fällt durch diesen Beweis die gesamte Speichelfütterungslehre."

Als Hauptbestandteile des Pollens führt Küstenmacher an (Seite 242):

„Im Pollenmagen wird der Pollen durch das den Ammen gleichzeitig zugeführte Wasser gequellt. Der Pollen öffnet sich und entleert

[1]) Arch. f. Hygiene 71.

seinen Inhalt, das Spermatoplasma, eine Milch, die aus gelösten Proteinen (Eiweißkörpern), Zucker (meist Trauben- resp. Invertzucker) und fettem Öl besteht." Der Pollenmagen besitzt nach Küstenmacher eine recht geringe Verdauungskraft, welche die Pollenschalen weder angreift, noch aus ihrem Zusammenhange löst. „Eine größere Wahrscheinlichkeit", schreibt Küstenmacher weiter, „hat daher meine zweite Annahme, die wegen Fehlens der Pepsin abscheidenden Magendrüsen dem Pollenmagen nur das Verdauen eines fertigen Substrates zuerkennt. Die Brutmilch des Pollenmagens ist das Spermatoplasma des Pollenkorns, das bei der Pflanze die zur Befruchtung der Blüte nötigen Pollenschläuche treibt. Ebenso wie hier das Spermatoplasma durch die Wandung des Embryosackes diffundiert, kann es auch durch die Magenwand des Pollenmagens diffundieren, und es wäre wohl hier die Annahme berechtigt, daß wir im Spermatoplasma solche Proteine vor uns haben, die ohne weiteres wegen ihrer kleinen Molekülgröße durch die Magenwand als Chylus wandern können."

Als direkte Beweisführung führt Küstenmacher an, daß es ihm durch Einbringen von reinem Blütenstaub in sterilisierte Rohrzuckerlösung gelang, eine energische Invertierung der letzteren herbeizuführen.

„Durch diesen Versuch", schreibt K., „ist der direkte Beweis erbracht, daß der Pollen selbst die nativen Eigenschaften der Invertase enthält und der Speichel im Bienenbrot diese Wirkung nicht erhöht resp. der Bienenspeichel nicht erst die Invertase in das Bienenbrot hineinbringt.

Durch die weitere serologische Eiweißdifferenzierung Langers ist nun bewiesen, daß diese Invertase derselbe Eiweißkörper ist, wie er im Honig, im Futtersaft und im Körper der Larven und der ausgebildeten Bienen vorhanden ist. Die Honiginvertase ist also nicht arteigenes Sekret der Honigbiene, sondern wird von Pflanzen im Spermatoplasma des Pollens gebildet und kommt aus dem Pollenmagen der Biene durch den Verschlußkopf in den Honigmagen und wird in diesem dem aufgenommenen Nektar einverleibt. Mit diesem Eiweißkörper gelangen noch, wie wir später sehen werden, andere Körper aus dem Pollenmagen in den Honig, die auch dem Pollen entstammen."

Zunächst möchte ich richtigstellen, daß die Priorität der Entdeckung einer Invertase im nativen Pollen Erlenmayer und v. Planta (1874) zukommt. Wenn Küstenmacher glaubt, ich nähme an, daß durch den Speichel der Biene das Eiweiß in den Pollen gelangt, so ist er in das Wesen meiner Arbeit nicht eingedrungen; schon seit Jahrzehnten wissen die denkenden Imker, daß das Bienenbrot der Stickstoffspender bei der Ernährung „des Biens" ist.

In recht übersichtlicher Weise behandelt Schönfelds bekannte Monographie (1897) die einschlägigen Fragen. Wir erfahren dort, daß bereits 1872 Schneider und 1885 v. Planta

die ersten Mitteilungen über den quantitativen Gehalt von Eiweißkörpern bei verschiedenen Pollenarten erbracht haben.

Die biologische Methode der Eiweißdifferenzierung erweiterte nun unsere Kenntnisse in dieser Frage durch die Beweisführung, daß sich im Bienenbrote neben den originären pflanzlichen Eiweißkörpern auch noch von der Biene stammendes Eiweiß befindet. Zwischen dem Pollen in der Blüte, dem von der Biene eben gesammelten und von dem letzten Fußpaare in der bekannten Packung der „Höschen" eingetragenen Blütenstaub, sowie dem in dem Wachsbaue vorfindlichen „Bienenbrote" bestehen nun recht wesentliche Unterschiede; erst eingehende systematische Untersuchungen werden diese Verhältnisse klären können. Als feststehend möchte ich auf Grund eigener diesbezüglicher, noch nicht abgeschlossener Untersuchungen heute zusammenfassend bloß hervorheben, daß Nektar und Blütenstaub vom Moment ihrer Aufnahme durch die sammelnde Trachtbiene bis zu ihrer vollendeten „Reifung" im Wachsbaue eine weitgehende spezifische Beeinflussung durch die Stockbienen erfahren; letzteren aber kommen je nach ihrem Alter und je nach dem physiologischen Zustande des Biens verschiedene physiologische Aufgaben zu.

In meiner im Jahre 1909 mitgeteilten Arbeit habe ich erwähnt, daß es mir nicht möglich war, durch Anwendung entsprechend hergestellter Antisera Beweise für das Vorkommen von aus honigenden Pflanzen stammendem Eiweiß im Honig zu erbringen. Die Behauptung Küstenmachers, das Honigeiweiß stamme aus dem Pollen, erregte deshalb mein vollstes Interesse, und es lag mir viel daran, diese Annahme entweder zu stützen oder zu stürzen. Ich wählte auch hierzu wiederum die biologische Methode.

Nach Küstenmacher ist das Honigeiweiß reines Polleneiweiß; unter dieser Annahme müßte es einerseits möglich sein, durch Injektionen von Honigeiweiß Antisera zu gewinnen, die mit den wässerigen, eiweißhaltigen Extrakten natürlicher Pollen Niederschläge geben. Es müßte andererseits aber auch möglich sein, durch Injektion von natürlichen Pollen, bzw. deren wässerigen Extrakten Antisera auf Honigeiweiß zu erzeugen. Ich injizierte nun die Eiweißkörper aus Honigen verschiedener Provenienz und hebe hier besonders hervor, daß die Gewinnung

der Honigeiweißkörper durch Ammonsulfatfällung erst nach Filtrieren derÁniglösungen erfolgte. Dies geschah deswegen, um die in den einzelnen Honigen, wenn auch immer nur in kleinsten Mengen, vorfindlichen Pollenkörner wegzubringen. Unbeachtet gelassen hätte dieses Moment vielleicht doch zu Täuschungen Veranlassung bieten können.

Die wässerigen Pollenextrakte stellte ich mir in der Weise her, daß ich abgewogene Mengen selbst gesammelten Pollens (Haselnuß, Erle, Sahlweide, Löwenzahn) intensiv mit feinstem sterilen Kieselsand verrieb, sodann filtrierte, zentrifugierte und nochmals filtrierte. Diese klaren Extrakte wurden sowohl als Testantigene für die Honigeiweißsera, wie auch als Antigene zur Erzeugung von Antiserum verwendet.

Es gelang mir nun niemals durch Zusammenbringen der einzelnen hochwertigen Honigeiweißantisera mit den Extrakten der obengenannten Pollensorten Niederschläge zu erreichen; es ergaben aber auch andererseits die hochwertigen Polleneiweißantisera mit den verschiedenen Honigeiweißlösungen niemals Niederschläge. Diese negativen Resultate besagen, daß Honigeiweiß und Polleneiweiß kein Eiweißmolekül gemeinsam haben, das als Antigen nach Injektion ihrer Lösungen die Bildung homologer Präcipitine veranlassen müßte. **Honigeiweiß und Polleneiweiß** sind **zwei differente Eiweißkörper**; das erstere läßt sich serologisch als von der Biene abstammend erkennen, für das Vorkommen von Polleneiweiß im Honig aber konnten bisher auch mit der spezifischen biologischen Methode keine Beweise erbracht werden.

Die Umwandlung der im natürlichen Haushalte vorfindlichen Kohlenhydrate zum Honige, sowie des Blütenstaubes zum Bienenbrote ist uns heute doch soweit geklärt und auch experimentell gesichert, daß die Sekrete der Speicheldrüsen es sind, mit denen das Bieneneiweiß in den Honig und ins Bienenbrot gelangt. Die Speichelfütterungslehre aber ist durch die Hypothesen Küstenmachers nicht zu Falle gebracht worden, wohl aber durch meine Ergebnisse ihre Wiedergeburt angezeigt.

Über den Fettgehalt und die biologische Bedeutung desselben für die Fische und ihren Aufenthaltsort, sowie über den Fettgehalt je nach dem Alter der Fische.

Von

Osw. Polimanti.

(Aus der physiologischen Abteilung der Zoologischen Station zu Neapel.)

(Eingegangen am 9. Dezember 1914.)

In einer im vergangenen Jahre 1913 veröffentlichten ersten Mitteilung [1]) über den Fett- und Wassergehalt vieler Fische des Golfes von Neapel gelangte ich nach Analysen, die ich von Ende Juni bis zu den ersten Augusttagen an Exemplaren ausführte, die eben lebend aus dem Meere ins Aquarium gebracht worden waren, zu in biologischer Hinsicht ziemlich wichtigen Schlußfolgerungen, wie Fage und Legendre [2]) anerkannten, die sich fast gleichzeitig mit mir, wie wir später sehen werden, damit beschäftigten, ein dem meinigen ähnliches Thema zu studieren. Die Resultate meiner Versuche führten mich zum Schlusse, daß die benthonischen Fischarten eine geringere Fettmenge und eine größere Wassermenge den nektonischen Fischarten gegenüber enthalten, die eine viel größere Fettmenge und eine viel geringere Wassermenge haben. Ich folgerte deshalb, daß bei den Fischen die Anlage zum Schwimmen und das spezifische Gewicht in enger Beziehung zueinander stehen; letzteres steht in intimen Beziehungen zum Gehalt an Fettstoffen und hängt zum guten Teil davon ab. Diese meine Hypothese wurde nicht nur durch meine obenerwähnten Versuche bestätigt, sondern auch durch die von Hjort und Lea [3])

---

[1]) O. Polimanti, Über den Fettgehalt und die biologische Bedeutung desselben für die Fische und ihren Aufenthaltsort. Vorläufige Mitteilung. Diese Zeitschr. 56, 439 bis 445, 1913.

[2]) L. Fage et R. Legendre, Teneur des sardines en eau et en matières grasses. Compt. rend. Soc. Biol. 76, 284, Séance du 21 Février 1914.

[3]) J. Hjort and E. Lea, Report on the International Herrings-Investigations during the year 1910. Publ. de circost. du Conseil permanent international pour l'exploration de la mer, 1911, Nr. 61.

bei den Cupleidae und beim Hering (Clupea harengus) sowie von Lund[1]) bei der Sprotte (Clupea sprattus) und von Fage und Legendre[2]) bei Sardinen (Clupea pilchardus) ausgeführten Untersuchungen. Es ergibt sich nämlich aus den Versuchen dieser Autoren offenbar, daß diese drei Wanderfische im Sommer an der Oberfläche leben und alsdann reich an Fett sind; im Winter dagegen leben sie in der Tiefe und sind alsdann reich an Wasser, ärmer an Fett.

In meiner ersten Abhandlung deutete ich darauf hin, daß ich diese Studien über den Fett- und Wassergehalt von Fischen verschiedener Spezies fortsetzen würde, um zu versuchen, diese meine Hypothese immer mehr zu bestätigen, wie auch um zur Lösung anderer Fragen zu gelangen, die experimentell zu lösen ich mir vorgenommen habe. Diese zweite Reihe von Untersuchungen habe ich an verschiedenen Fischarten mit voneinander verschiedenem Wohnort von Ende Juli bis Anfang August dieses Jahres (1914) durchgeführt, d. h. also in dem nämlichen Zeitraum des Jahres, in dem die Untersuchungen des Jahres 1913 gemacht wurden, so daß eine Vergleichung der verschiedenen Resultate möglich ist.

Sobald die Fische lebend aus dem Meere anlangten und hierauf in die Laboratorien des Aquariums gebracht worden waren, wurden sie gewogen und dann in einen feinen Brei verwandelt. Wie bei den ersten Experimenten wurden sie alsdann in einem Ofen bei 105° bis zur Erhaltung eines konstanten Gewichtes getrocknet, worauf das Fett mit Schwefeläther in einem Soxhletschen Extraktionsapparat während einer Dauer von 12 Stunden extrahiert wurde; diese Zeit genügte, wie angestellte Versuche ergeben hatten, damit das Fett durch den Äther ganz extrahiert wurde.

Ich bringe die erhaltenen Resultate in Gestalt einer Tabelle (Tabelle I), auf der ich die Zahl der untersuchten Fische, ihre Länge und endlich den Prozentgehalt des Wassers und des Fettes, das sowohl in der frischen Substanz als in der bei 105° getrockneten Substanz enthalten war, verzeichnet habe.

---

[1]) O. Sund, Undersøkelser over Brislingen i Norske Farvand. Aarberet vedk. Norg. Fisk. 1911.

[2]) loc. cit.

Tabelle I.

Name und Art der untersuchten Fische	Zahl der untersuchten Fische	Länge der untersuchten Fische cm	Gewicht der frischen Fische g	Wasser-Prozente g	Fett-Proz. d. frischen Substanz g	Fett-Proz. der Trocken-Substanz g	Bemerkungen über den Wohnort der untersuchten Fische
A. Wandernde Seefische:							
Clupea pilchardus Art.[1])	10	—	225,00	69,201	6,298	20,447	Lebt verschiedene Kilometer von der Küste entfernt, wohin er Streifzüge macht, um den an Plankton reichen Strömungen zu folgen.
Mugil chelo Cuv.[1])	1	—	1300,00	70,983	3,659	12,609	Lebt in geschützten Meerbusen.
Engraulis encrasicholus L.[1])	21	—	358,00	75,265	2,260	9,133	Findet sich sehr häufig an der Oberfläche des Meeres und weit auf offener See.
			Mittel	71,816	4,072	14,063	
B. Küstenbewohner am Gestade, leben zwischen den Klippen in verschiedener Tiefe:							
Labrus turdus C. V.	1	10	99,75	72,280	6,649	14,341	Zwischen den Klippen und auf den Graswiesen von Posidonia bis zu 30 m Tiefe.
Serranus scriba Cuv.	2	13—15,5	78,85	62,777	4,946	13,628	Häufig unter den bis zu ca. 50 m tiefen Klippen des Gestades.
Motella tricirrata Bl.	4	19,5—21	234,35	77,021	4,356	10,009	Unter den bis zu ca. 50 m tiefen Klippen und auf den Graswiesen von Posidonia.
Scorpaena scrofa L.[1])	3	—	226,50	75,121	1,795	7,211	Auf dem klippen- und schlammreichen Grund bis zu einer Tiefe von 500 m.
Congromuraena balearira Kp.[1])	2 ♂ ♀	—	75,00	77,415	1,529	6,768	Gewöhnlich auf Detritus und Schlamm enthaltend. Grund.
Blennius gattorugine Will.[1])	5	—	85,75	74,565	1,634	6,422	Wohnt unter d. Klippen in einer Tiefe von wenigen Metern.
Heliastes chromis Gthr.	3	7—9,5	29,90	81,605	2,990	5,500	In zahlreichen Scharen unter d. Klippen am Gestade des Posillip, b. Mergellina u. Nisida.
Scyllium canicula L.[1])	2 ♂ 2 ♀	—	835,00	73,295	1,420	5,315	Unter den Klippen und auf weichem Grund 20 bis 400 m tief.
Oblata melanura C. V.	3	12,5—14	79,55	56,328	2,204	5,202	In zahlreichen Scharen längs der Klippenreihe von Mergellina und Via Caracciolo.
Trachurus trachurus L.	2	6,5—7	9,50	63,157	1,831	4,971	Die erwachsenen Fische leben in einer Tiefe von 300 m und mehr unter den Klippen.
Sargus rondeletii C. V.	5	8—12,2	72,30	58,506	1,788	4,311	Häufig unter d. Klippen d. Küste.
Conger vulgaris Cuv.[1])	2	—	68,79	77,213	0,860	3,774	In einer Tiefe von wenigen bis zu 1000 m.
			Mittel	70,773	2,666	7,287	
C. Im Sande des Gestades leben in der Maximaltiefe von ca. 100 m:							
Torpedo ocellata Raf.[1])	2 ♂ ♀	—	920,00	78,620	1,405	6,100	Vorzugsweise im sandig. Grund des Gestades (4 bis 15 m), seltener auf dem Detritus und Schlamm enthaltend. Grund in einer Tiefe von 5 bis 100 m.
Julis turcica Risso	1	16,5	45,98	57,307	2,588	6,062	Verborgen auf dem sandigen Grunde des Gestades.
Labrax lupus Cuv.	1	—	1450,00	62,765	1,574	5,864	Lebt in der Nähe der Seeküsten, namentl. wo sich die Wellen brechen, um sich der Tiere zu bemächtigen.
Solea ocellata L.[1])	4	—	337,50	73,777	1,429	5,448	Lebt auf sandigem Grund.
Trachinus draco L.[1])	8	—	282,40	71,519	1,348	4,730	Lebt ausschließl. auf dem sandigen Grunde des Gestades.
Rhomboidyotis pod. L.[1])	7	—	310,50	78,116	0,323	1,474	Lebt auf dem sandigen Grunde der Küste.
			Mittel	70,334	1,444	4,946	

[1]) Betreffen Resultate der in der ersten Abhandlung (l. c. S. 442) veröffentlichten Experimente.

Tabelle I (Fortsetzung).

Name und Art der untersuchten Fische	Zahl der untersuchten Fische	Länge der untersuchten Fische cm	Gewicht der frischen Fische g	Wasser-Prozente g	Fett-Proz. d. frischen Substanz g	Fett-Proz. der Trocken-Substanz g	Bemerkungen über den Wohnort der untersuchten Fische
D. Unter den Algen des Gestades (Graswiese von Posidonia) und Sträuchern leben in einer Tiefe von nicht mehr als 50 m:							
Cristiceps argentatus Gthr.	18	3,5—7,8	22,49	73,721	1,178	4,483	Häufig unter den Algen des Gestades, wo wenig Wasser ist.
Hippocampus guttulatus Cuv.	6♂ 6♀	9—10	26,800	75,205	0,907	3,654	Auf Sand und Detritus enthaltendem Grund und auf den Graswiesen von Posidonia.
Siphonostoma rondeletii de la R. . . .	4	19—26	21,400	61,519	1,067	2,766	Auf Detritus enthaltend. Grund und sehr häufig auf den Graswiesen von Posidonia.
			Mittel	70,148	1,027	3,634	
E. Im Schlamm verborgen bis zu einer Tiefe von 100 bis 800 m leben:							
Mullus barbatus L. . .	4	10,2-12,5	77,30	75,032	1,039	4,162	Lebt auf Detritus u. Schlamm enthaltendem Grunde bis zu einer Tiefe von 300 m u. mehr.
Uranoscopus scaber L.[1])	2	—	120,00	78,125	0,569	2,600	Lebt vergraben in Sand und Schlamm enthaltend. Grund in einer Tiefe von wenigen bis 100 m.
Trigla corax Bp. . . .	1	22	88,00	69,829	0,395	1,314	Lebt in großen Tiefen (400 bis 800 m) in der Umgegend des Golfes von Neapel.
Gobius paganellus L.[1]).	8	—	130,48	77,145	0,255	1,115	Zieht das schmutzige Wasser der Häfen vor.
			Mittel	75,032	0,567	2,297	
F. In der Tiefe wohnt (in Tiefen von 1000 bis 1200 m):							
Cyclothone microdon Günther	—	1½—3	26,7	86,142	0,035	0,269	Lebt in Tiefen v. 1000 bis 1200 m.

Die Fische sind, je nach ihrem Wohnort, in Kategorien angeordnet und in jeder Kategorie, wie man sieht, in absteigender Ordnung, je nach ihrem Prozentgehalt an Fett, angeführt. Ich habe auch die in meiner oben zitierten ersten Abhandlung erhaltenen Resultate verwendet, damit die in dieser zweiten Arbeit erhaltenen Resultate wechselweise dadurch ergänzt werden könnten.

Um sie je nach ihrem Wohnort zu ordnen, habe ich zum Teil namentlich die Abhandlung von Lo Bianco[2]) benützt, in der sich sehr genaue biologische Angaben über die Fauna des Golfes von Neapel befinden, zum Teil die Kenntnisse verwertet, die ich mir in dieser Hinsicht bei Gelegenheit eines langen Aufenthaltes im Neapler Aquarium angeeignet hatte.

[1]) Betreffen Resultate der in der ersten Abhandlung (l. c., S. 442) veröffentlichten Experimente.

[2]) Lo Bianco, Notizie biologiche riguardanti specialmente il periodo di maturità sessuale degli animali del Golfo di Napoli. Mitteilungen aus der Zoolog. Station zu Neapel 19, 4. Heft, S. 513 bis 763, 1909.

Eine auch nur oberflächliche Prüfung aller von mir erhaltenen und in Tabelle I und Tabelle II — in der ich der größeren Klarheit halber den Prozentgehalt an Wasser und an Fett der frischen Substanz und der Trockensubstanz der zur Untersuchung dienenden und je nach ihrem Wohnort in Kategorien geordneten Fische angeführt habe — zusammengestellten Resultate führt uns zur Bestätigung dessen, was ich in meiner ersten Abhandlung feststellte, daß nämlich in dem Maße, wie wir von Nekton zum Benthos hinabsteigen, die Fische mehr Wasser und weniger Fett enthalten, und daß sie umgekehrt, wenn wir wieder vom Benthos zum Nekton aufsteigen, weniger Wasser und eine größere Fettmenge enthalten.

Tabelle II.

Einteilung der Fische je nach ihrem Wohnort	Wasser-Prozente g	Fett-Prozente der frischen Substanz g	Fett-Prozente der Trockensubstanz g
A. Wandernde Seefische . . .	71,816	4,072	14,063
B. Küstenbewohner (unter den Klippen	70,773	2,666	7,287
C. Küstenbewohner (im Sande des Gestades)	70,334	1,444	4,946
D. Küstenbewohner (unter den Algen des Gestades) . .	70,148	1,027	3,634
E. Küstenbewohner (im Schlamm)	75,032	0,567	2,297
F. In der Tiefe wohnende . .	86,142	0,035	0,269

Wollen wir die Unterschiede im Prozentgehalt an Fett und an Wasser der Trockensubstanz zwischen den verschiedenen Gruppen von untersuchten und nach ihrem Wohnort in Klassen gebrachten Fischen feststellen, so erhalten wir Zahlen, die das oben Gesagte bestätigen und immer mehr erläutern.

Tabelle III.

Unterschiede, betreffend den Prozentgehalt an Fett der Trockensubstanz, zwischen den verschiedenen Gruppen von Fischen.

A — B = 6,776	A — Mittel von BCDE (4,541) = 9,522
B — C = 2,341	Mittel von BCDE — F . . . = 4,272
C — D = 1,312	A — F . . . . = 13,794
D — E = 1,337	
E — F = 2,028	

Tabelle IV.

Unterschiede, betreffend den Prozentgehalt an Wasser, zwischen den verschiedenen Gruppen von Fischen.

A — Mittel von BCDE (71,571) . . . = 0,245
F — Mittel von BCDE . . . . = 14,571
F — A . . . . = 14,326

Eben um aus diesen Experimenten die der Wahrheit am meisten entsprechenden Schlußfolgerungen zu ziehen, wollte ich die Mittel aus einer ziemlich großen Zahl von Beobachtungen entnehmen; ich habe auch die der ersten Arbeit hinzugefügt und werde mich bemühen, auf Grund dieser Mittel die sich daraus ergebenden Tatsachen richtig festzustellen.

Was den Fettgehalt anbelangt, so ist dieser am größten bei den wandernden Seefischen, viel geringer bei den an den Meeresküsten wohnenden und nimmt bei diesen Küstenfischen allmählich stufenweise ab von denen, die unter den Klippen leben, bis zu den im Sande des Gestades lebenden, dann den in den Algen am Gestade und endlich den im schlammigen Grund sich aufhaltenden. Kurz, wie es scheint, bestimmt stets eben die Tiefe, in der sie leben, den Fettgehalt bei diesen Tieren, da wir tatsächlich bei den Fischen der Tiefe Fett nur in minimaler Menge finden.

Was sodann den Wassergehalt betrifft, besteht ein Unterschied zwischen den wandernden Seefischen und den Küstenfischen, der jedoch nicht groß ist, wie sich deutlich aus Tabelle IV ergibt. Dies erklärt sich leicht, wenn man stets an den Wohnort denkt: es können nämlich viele Seefische, wie Engraulis encrasicholus L., bis zur einer Tiefe von 50 m gefangen werden (Lo Bianco, zitierte Arbeit, S. 715), und viele von diesen steigen allmählich zur Winterszeit, wenn die Temperatur an der Meeresoberfläche immer mehr abnimmt, in die Tiefe, wie z. B. Apogon rex mullorum Cuv., Balistes Capriscus L. und noch andere Fische. Und deshalb muß der Wassergehalt bei diesen beiden Kategorien von Fischen, d. h. den Pelagischen- und Küstenfischen, nahezu gleich sein. Gewiß besteht ein interessantes Studium, das durchzuführen ist und z. T. schon von mir begonnen wurde, darin, die Schwankungen zu untersuchen, die die chemische Zusammensetzung der Fische während der verschiedenen Jahreszeiten erfährt. Auf diese Weise können viele höchst wichtige Fragen aus dem Gebiete

der Biologie aufgeklärt werden; ich bin der Ansicht, daß z. B. die periodischen Wanderungen, die sowohl in der Entfernung von bestimmten Plätzen als auch im Aufsuchen von Tiefen bestehen, endlich eine angemessene Erklärung finden können. Und so ließe sich auch von vielen anderen Fragen der Meeresbiologie, die bis auf den heutigen Tag noch ihrer Lösung harren, sagen: die Beobachtungen sind mit Fleiß gemacht worden, die Tatsachen liegen vor, aber es fehlt noch immer eine annehmbare Erklärung.

Ein enormer Unterschied im Wassergehalt besteht zwischen Pelagischen- und Küstenfischen im Vergleich mit den in ungeheuren Tiefen lebenden. Meine Beobachtungen bezüglich dieser Fische der Tiefe haben sich bis jetzt nur auf eine Art beschränkt: Cyclothone microdon Günther, eben wegen der Schwierigkeit, sich diese Tiere zu verschaffen. Hoffentlich werde ich bald andere Arten erhalten können, die im Golf leben (z. B. Pristiurus), und ich glaube, daß, wenn ich sie in bezug auf ihren Fett- und Wassergehalt analysiert habe, die hierbei erhaltenen Resultate das hier Beobachtete und Erläuterte bestätigen werden.

Es entsprach also der Wahrheit, was ich in der ersten Abhandlung auf Grund jener vorläufigen Versuche behauptete, daß nämlich die nektonischen Fische beim längeren oder kürzeren Verweilen an der Oberfläche durch eine größere Fettmenge unterstützt werden, die in wunderbarer Weise die Funktion der Schwimmblase unterstützt und vervollständigt. Dagegen finden wir, wenn die betreffende Fischart mehr oder minder seßhaft und deshalb das Schwimmen verhältnismäßig beschränkt ist, eine geringere Fettmenge und eine größere Wassermenge, gleichzeitig aber eine mehr oder weniger im rudimentären Zustand befindliche Schwimmblase. Wir müssen also annehmen, daß die funktionellen Beziehungen zwischen Schwimmblase und Fett- und Wassergehalt sehr intim sind und sich gegenseitig ergänzen, um die Bewegungen bei diesen Tieren zu begünstigen.

In meiner ersten Abhandlung wies ich hin auf die hohe biologische Bedeutung der vertikalen Wanderungen der Eier und der Fischembryonen, die eben insbesondere durch den Fettgehalt verursacht werden. Ich bemerkte auch, daß viele Fische, die im erwachsenen Zustand benthonisch sind, im Larven-

Tabelle V.

Name und Art der untersuchten Teile	Alter der untersuchten Fische	Zahl der untersuchten Fische	Dimensionen der untersuchten Fische ccm	Gewicht d. frischen Fische ccm	Wasser-Prozente g	Fett-Prozente der frischen Substanz g	Fett-Prozente der Trockensubstanz g	Bemerkungen über den Wohnort der untersuchten Fische
Crenilabrus (sp. ?)	junge	10	4,2—7	27,20	70,470	3,774	7,776	Die postlarvalen Stadien wie die am meisten vorgeschrittenen jugendlichen Formen werden unter den Algen des Gestades und den sich auf sandigem Grund anhäufenden Algen gefunden. Die erwachsenen Formen werden auf den Klippen des Gestades bis zu ca. 20 m Tiefe gefangen.
Crenilabrus pavo C. V . .	erwachsene	4	16,5—18,5	200,80	**71,115**	**3,742**	**7,310**	
Unterschiede					**0,645**	0,032	0,466	
Blennius gattorugine Will.	junge	7	6—7,5	41,09	78,305	1,542	6,594	Die jungen Stadien und die erwachsenen wohnen in den Klippen in einer Tiefe von wenigen Metern.
„ „ „	erwachsene	5	10—13	85,75	**74,565**	**1,634**	**6,422**	
Unterschiede					3,740	**0,092**	0,172	
Mugil (sp. ?)	junge	4	1,5—1,9	0,165	69,151	5,363	14,400	An der Oberfläche der Strömungen am Gestade und derjenigen auf hoher See werden im Juni-Oktober zahlreiche Exemplare von postlarvalen und jugendlichen Stadien angetroffen. Die erwachsenen Formen leben mit Vorliebe an der Küste.
Mugil chelo Cuv.	erwachsene	1		1300,00	**70,983**	**3,659**	**12,609**	
Unterschiede					**1,832**	1,704	1,791	
Box Salpa L.	junge	16	6—10	86,30	79,721	3,050	15,045	Die kleinen streifen in zahlreichen Scharen in der Nähe der Küste umher und bleiben in dieser Gegend, bis sie eine Länge von ca. 10 cm erreichen; dann verbreiten sie sich in tieferen Gewässern, namentlich in den Korallenriffen, auf den Wiesen von Posidonia und auf den 6 bis 12 m tiefen Klippen.
„ „ „	erwachsene	3	12,5—13,2	105,81	**77,497**	**4,662**	**20,718**	
Unterschiede					2,224	**1,612**	**5,673**	
Julis turcica L.	junge	6	7,5—12,5	62,90	70,311	4,406	18,787	Die jugendlichen Stadien leben in verhältmäßig seichten Gewässern, während die erwachsenen Stadien unter den Klippen des Gestades und den Wiesen von Posidonia 6 bis 12 m tief leben.
„ „ „	erwachsene	2	16—16,5	92,00	**76,307**	**2,588**	**6,062**	
Unterschiede					**5,996**	1,818	12,725	
Torpedo ocellata Raf. . .		2	2,7—5	14,10	64,539	0,9574	2,700	Die untersuchten Exemplare waren alle männlich und die zwei jüngsten wurden dem mütterlichen Uterus noch am Dottersack haftend entnommen. Die jugendlichen Stadien, sobald sie aus dem Uterus ausgetrieben sind, wie auch die erwachsenen, leben im Sande des Strandes in geringer Entfernung von der Küste, in Tiefen von 4 bis 15 m, und selten in Schlamm oder Detritus enthaltendem Grund in größeren Tiefen.
„ „ „ . .		1	11,2—17	125	60,816	1,927	3,256	
„ „ „ . .		1	13,5—20	140	67,267	1,211	3,284	
„ „ „ . .		1	18—27,5	490	67,574	1,855	5,721	
„ „ „ . .		1	19,5—31	520	67,575	1,672	5,065	
„ „ „ . .		1	22—37	850	67,757	1,405	6,100	
„ „ „ . .		1	27,5—42,5	1640	60,156	3,133	8,414	

zustand nektonisch sind (Pleuronectiden, Trachiniden), was eben durch eine größere Fettmenge, die sie enthalten, und durch eine im jugendlichen Zustand verhältnismäßig mehr als im erwachsenen Zustand entwickelte Schwimmblase bedingt ist.

Ich halte es für interessant, hier die ersten Resultate von Untersuchungen zu veröffentlichen, die von mir über den Fett- und Wassergehalt mit denselben analytischen Methoden, auf die ich oben hinwies, bei einigen Fischarten im jugendlichen und im erwachsenen Zustand ausgeführt wurden. Ich behalte mir vor, diesen vorläufigen Untersuchungen andere, schon begonnene, ähnliche über deutlich nektonische und deutlich benthonische Fischarten folgen zu lassen, indem ich sie vom Ei bis zur erwachsenen Form verfolge. Auf diese Weise können neue Tatsachen aufgeklärt werden und viele bis jetzt nicht gelöste biologische Fragen können eine Erklärung finden.

Aus den Resultaten, die ich in der vorstehenden Tabelle V sowohl hinsichtlich des Wasser- als des Fettgehalts der untersuchten Fische angeführt habe, lassen sich Schlußfolgerungen ziehen, die das immer mehr bestätigen, was ich in meiner ersten Abhandlung wie auch im ersten Teile dieser Arbeit festgestellt hatte.

Crenilabrus und Mugil halten sich im jugendlichen Zustand stets mehr an der Oberfläche, sowohl in der Nähe der Küste als in den Strömungen am Gestade, wie auch auf offener See, als es die erwachsenen Formen tun; nun wohl, die ersteren haben in Vergleich mit den letzteren eine größere Fett- und eine geringere Wassermenge. Die Unterschiede sowohl im Fett- als im Wassergehalt sind fast gleich Null bei Blennius, weil diese Fische sowohl in den jugendlichen als in den erwachsenen Stadien unter den Klippen untereinander vermengt stets in derselben Tiefe wohnen. Die erwachsenen Formen von Box hingegen sind viel beweglicher als die jugendlichen Formen und deshalb enthalten sie eine geringere Wassermenge und eine größere Fettmenge. Julis endlich lebt in den jugendlichen Stadien in verhältnismäßig seichten Gewässern und kann als eine nektonische Form betrachtet werden, während in dem Maße, wie er sich allmählich entwickelt, eine deutlich benthonische Form wird und fast ausschließlich im Sande eingewühlt lebt. Nun beobachten wir aber bei Julis, daß wir in

den jugendlichen Stadien eine geringere Wassermenge und eine größere Fettmenge als im erwachsenen Zustand finden.

Eine letzte Reihe von Untersuchungen habe ich bei Torpedo ocellata ausgeführt und diesen Fisch sowohl nach Wasser- als Fettgehalt analysiert, indem ich mit Exemplaren begann, die noch im Uterussack enthalten waren, bis zu ganz erwachsenen Exemplaren. Um mögliche Fehler zu vermeiden, untersuchte ich lauter Exemplare männlichen Geschlechts, was man wohl versteht, wenn man bedenkt, daß namentlich in den erwachsenen Stadien, wenn ich Individuen weiblichen Geschlechts verwendet hätte, die in den Eiern enthaltene große Fettmenge zu irrtümlichen Erörterungen hätte führen können, wenn ich diese Daten mit den aus den Analysen der männlichen Individuen erhaltenen vergliche. Bei den Selachiern habe ich diesen Umstand schon in einer anderen Arbeit[1]) hervorgehoben, und es war deshalb unbedingt nötig, diese Fehlerquelle zu vermeiden. Der Wohnort sowohl der jugendlichen als auch der erwachsenen Stadien ist stets der gleiche: sie leben alle an der Küste, in geringer Tiefe (4 bis 15 m) im Sande vergraben. Bei Torpedo beobachtet man also die Tatsache, daß die Fettmenge stufenweise von den jugendlichen zu den erwachsenen Formen nach und nach zunimmt. Der Wassergehalt erhielt sich ungefähr konstant. Daraus folgt, daß bei diesem Selachier, während der Wohnort im ganzen Zeitraum seines Wachstums sich stets gleich erhält, der Fettgehalt allmählich mit dem Alter zunimmt.

Diese zweite Reihe der bezüglich dieses Themas ausgeführten Untersuchungen darf nicht als endgültig abgeschlossen betrachtet werden. Es sind weitere einschlägige Studien erforderlich, um die Frage, deren Behandlung ich unternommen habe, aufzuklären, weil sie dazu dienen, für Fragen von der größten biologischen Bedeutung eine befriedigende Erklärung zu geben. In meinen beiden Abhandlungen habe ich schon auf viele dieser Fragen hingewiesen, die noch der Lösung harren.

---

[1]) O. Polimanti, Über den Fettgehalt der Leber einiger Selachier während der Zeit der Schwangerschaft. Diese Zeitschr. 38, 497 bis 500, 1912.

Über den Einfluß der Kalksalze auf den Phlorizindiabetes.

Von

Martin Jacoby und Rudolf A. P. Rosenfeld.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 13. Dezember 1914.)

Aus Untersuchungen von Jacoby und Schroth[1]) sowie von Jacoby und Eisner[2]) aus dem Moabiter Laboratorium, mit denen klinisch-experimentelle Erfahrungen v. d. Veldens[3]) gut übereinstimmen, geht hervor, daß Kalksalze neben ihren sonstigen pharmakologischen Wirkungen imstande sind, die Funktionen der Niere herabzudrücken. Um diese Rolle des Kalkes noch weiter klarzulegen, haben wir die Einwirkung der Kalksalze auf den Phlorizindiabetes des Hundes studiert. Da man hier eine abnorm gesteigerte Nierenfunktion annehmen darf, schien Aussicht zu bestehen, die Kalkwirkung besonders deutlich zu demonstrieren, da ja auch Jacoby, Schroth und Eisner gerade bei veränderter Nierenfunktion die sichersten Ausschläge erhalten hatten.

Versuchsanordnung.

Die Versuche wurden meist an Hündinnen, ausnahmsweise am Hunde durchgeführt. Bei den Hündinnen wurde vorher die Falksche Operation vorgenommen. Während der Versuche hungerten die Tiere, bekamen aber nach Belieben Wasser zu saufen. Nach einigen Hungertagen begann die Phlorizinzufuhr. Das Phlorizin wurde täglich subcutan, in Olivenöl emulsioniert, eingespritzt, wie es Colen und Lusk empfohlen hatten. Nach einigen Phlorizintagen wurde dann ebenfalls subcutan unter gleichzeitiger Weitergabe des Phlorizins ein Kalksalz mehrmals täglich eingespritzt. Durch die subcutanen Kalkeinspritzungen

[1]) Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. **25**, 1912.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. **1913**, H. 29 u. Arch. f. klin. Med. 1913, **112**.

[3]) Therap. Monatsh. **1913**, Oktober.

entstehen leicht Abscesse, so daß es vielleicht zweckmäßiger ist, intravenöse Kalkinjektionen zu machen, was wir in den letzten Jahren zu anderen Zwecken vielfach mit bestem Erfolge ausgeführt haben. Nach Schluß der Kalkperiode kam dann noch eine Phlorizin-Hunger-Nachperiode, an deren Ende die Tiere entweder starben oder aus dem Versuche genommen wurden. In einzelnen Versuchen wurde auch Kalk vor dem Phlorizin verabreicht. Wenn auch in der Literatur hinreichende Erfahrungen über den Ablauf des unbeeinflußten Hunger-Phlorizindiabetes vorliegen, so haben wir auch derartige Versuche ausgeführt, um direkte Vergleichszahlen zu haben.

Die Tiere wurden täglich um die gleiche Zeit katheterisiert, die Blase ausgespült und der Urin auf den Gehalt an Zucker, Aceton und Stickstoff untersucht. Der Zucker wurde titrimetrisch und polarimetrisch, in einem Teile der Versuche auch nur polarimetrisch bestimmt, Aceton nach Messinger-Huppert, der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt, immer Doppelanalysen ausgeführt. Alles übrige ergibt sich aus den Protokollen.

Versuch 1.

Hündin wiegt am 10. VI. 13 17 kg. — Vor einer Woche war bei ihr die Falksche Operation ausgeführt worden. Am 9. VI. hat das Tier zum letzten Male gefressen.

Tabelle I.

Versuchstag	Urinmenge	Spez. Gewicht	Zucker		Stickstoff	D:N	Aceton	Gewicht	Phlorizin
	ccm		%	g	g		mg	kg	
1	620	1031	—	—	16,008	—	—	17	
2	266	1033	—	—	5,918	—	—	—	
3	164	1034	—	—	3,859	—	—	16	
4	555	1056	6,96	38,584	10,428	3,7	92,8	—	2,5 g pro die (Tag 4–12)
5	813	1051	5,39	43,804	14,707	2,9	160,4	—	
6	1415	1045	3,64	51,563	16,105	3,2	320,0	13,7	
7	1420	1030	2,60	36,977	11,829	3,1	363,9		
8	1026	1035	4,02	41,245	10,804	3,8	273,6		
9	946	1035	4,26	40,340	10,671	3,8	262,0		
10	1390	1019	1,79	24,909	8,115	3,1	397,5		
11	530	1045	4,30	22,810	8,807	2,6	155,4		
12	1041	1021	1,83	19,071	7,079	2,7	255,8	11,5	

Krankheitsverlauf und Sektion: Am 6. Phlorizintag (9. Krankheitstag) sehr matt, am Ende des letzten Versuchstages wird er morgens sterbend gefunden, wird daher schon um 8³/₄ Uhr morgens katheterisiert, stirbt 10¹/₄ Uhr. Vor dem Tode hat er noch gallige Flüssigkeit erbrochen. — Bei der Sektion wird der Magen mit Galle gefüllt angetroffen, die Gallenblase ist prall gefüllt, die Leber stark verfettet. Die Nierenkanäle verfettet (nicht pathologisch), Nieren sehr ödematös, die linke Lunge etwas verdichtet.

Versuch 2.

Hündin. Am 28. VI. 13 Falksche Operation, am 29. VI. zum letzten Male gefressen, wiegt am 30. VI. $9^1/_2$ kg.

Tabelle II.

Versuchstag	Urinmenge	Spez. Gewicht	Zucker		Stickstoff	D:N	Aceton	Gewicht	Phlorizin	Bemerkungen
	ccm		%	g	g		mg	kg		
1	340	1015	—	—	—	—	—	9,5		
2	163	1026	—	—	1,91	—	—	8,5		
3	1196	1021	3,5	42,34	6,09	7,0	—	—	2 g pro die	
4	714	1031	4,0	28,30	8,07	3,5	154,4	—		
5	1235	1021	2,4	30,01	7,78	3,8	389,9	—		
6	935	1022	2,1	19,63	6,34	3,1	268,5	—		
7	780	1020	2,6	20,72	4,75	4,4	192,7	—		
8	170	1032	4,0	6,82	1,67	4,0	54,9	6,8		Nur Teil e. Tages

Krankheitsverlauf und Sektion: Vom 4. Phlorizintag an blutiger Stuhl, vom 5. an sehr matt, stirbt in der Nacht des 6. Phlorizintages. — Sektion: Nieren sehr blutreich, Milz ganz anämisch, Darmblutungen.

Versuch 3.

Hund wiegt am 14. XII. 9,5 kg. — Am 15. XII. hat das Tier zum letzten Male gefressen.

Tabelle III.

Versuchstag	Urinmenge	Spez. Gewicht	Zucker		Stickstoff	D:N	Aceton	Gewicht	Phlorizin	Calcium lacticum	Bemerkungen
	ccm		%	g	g		mg	kg		g	
1	400	1021	—	—	6,19	—	—	9,5	—	—	
2	167	1020	—	—	3,69	—	—	—	—	—	
3	449	1044	7,0	30,08	5,66	5,6	nicht bestimmt	—	1,9 g pro die	—	
4	432	1046	7,45	30,58	9,16	3,5	160,5	—		—	
5	585	1040	5,13	30,01	nicht bestimmt	—	173,9	—		6	
6	360	1003	0,19	0,68	0,624	1,1	0	8		3	Teil eines Tages

Krankheitsverlauf und Sektion: Vom 3. Phlorizintag (1. Kalktag) an ist das Tier matt, am 2. Kalktag sehr elend und stirbt schon nachmittags 4 Uhr 50 Minuten. — Sektion: Die Kalkinjektionsstellen sehr gereizt, die Leber verfettet.

Versuch 4.

Hündin wiegt am 30. XII. 12 20,5 kg. — Vor etwa einer Woche war die Falksche Operation ausgeführt worden. Am 2. I. 13 hat das Tier zum letzten Male gefressen.

Tabelle IV.

Versuchstag	Urinmenge ccm	Spez. Gewicht	Zucker %	Zucker g	Stickstoff g	D:N	Aceton mg	Gewicht kg	Phlorizin	Calcium lacticum
1	260,5	1021	—	—	4,847	—	—	20,5	—	—
2	153	1021	—	—	3,061	—	—	—	—	—
3	539,5	1033	8,16	44,12	3,387	13,2	—	20,15		
4	919	1025	4,40	40,48	8,389	4,8	267	—		
5	1459,5	1022	3,24	47,25	11,527	4,1	470	—		
6	1528	1018	2,2	33,62	8,092	4,2	465	—	3,075 g	3,0 g
7	1580	1015	2,14	33,77	8,273	4,1	496	—	pro	pro
8	1161	1020	3,03	35,17	8,945	3,9	297	—	die	die
9	950	1020	2,56	24,32	9,031	2,7	251	—		
10	1036	1020	2,35	24,37	10,039	2,4	266	—		
11	782	1009	0,67	5,27	1,955	2,8	0	17,5		

Krankheitsverlauf und Sektion: In den letzten Tagen ist das Tier matt, am letzten Versuchstage sehr elend, stirbt 2 Stunden nach Abschluß des Versuches. — **Sektion:** Keine erhebliche Reaktion an den Injektionsstellen, noch viel subcutanes Fett vorhanden, Leberverfettung makroskopisch nicht erkennbar.

Versuch 5.

Hündin wiegt am 30. III. 13,5 kg — vor 1 Woche war die Falksche Operation ausgeführt worden —; erhält am 30. III. 13 früh die letzte Nahrung.

Tabelle V.

Versuchstag	Urinmenge ccm	Spez. Gewicht	Zucker %	Zucker g	Stickstoff g	D:N	Aceton mg	Gewicht kg	Phlorizin	Calcium lacticum	Bemerkungen
1	234	1024	—	—	3,791	—	—	14,0	—		
2	492	1020	—	—	6,436	—	—	—	—	3,0 g pro die	
3	407	1019	—	—	5,551	—	—	—	—		
4	734	1034	4,36	32,00	9,847	8,3	205	—			
5	620	1044	4,24	26,29	10,633	2,5	161	—			
6	446	1050	4,84	20,59	9,004	2,3	86	—	2,8 g pro die		
7	387	1041	1,11	4,30	6,854	0,6	48	—		—	
8	599	1031	0,73	4,37	7,925	0,6	68	—		—	
9	255	1032	0,54	1,38	3,001	0,5	22	10,5		—	Teil e. Tages

Krankheitsverlauf und Sektion: Das Tier war noch am vorletzten Versuchstage ganz munter, stirbt in der Nacht des letzten Versuchstages. **Sektion:** Die Blase ist leer, noch viel Fettgewebe vorhanden. Die Leber wird von Herrn Prof. **Benda** als anämisch bezeichnet. Herrn Prof. **Benda** verdanken wir auch mikroskopische Präparate der in Formalin gehärteten Nieren und das folgende Protokoll über den Befund: In der Rindensubstanz sind die Glomeruli stark mit

Blut gefüllt, die Epithelien der gewundenen Kanälchen sind erheblich gequollen, so daß das Lumen nahezu verschlossen ist. Die Marksubstanz zeigt eine Reihe von länglichen Herden, in denen die Capillaren und die kleinsten Venen stark erweitert und mit Blut gefüllt sind. Innerhalb dieser Herde liegen Infiltrationen von Lymphocyten, die Kanälchen sind wesentlich durch diese Herde auseinandergedrängt. Eine Beteiligung der Kanälchen ist nicht nachzuweisen. Ob Kalkablagerungen vorhanden sind, ist wegen der angewandten Methodik nicht zu entscheiden.

Versuch 6.

Hündin wiegt am 24. II. 13 14 kg — Falksche Operation vor 8 Tagen —; erhält am 24. II. 13 morgens die letzte Nahrung.

Tabelle VI.

Versuchstag	Urinmenge ccm	Spez. Gewicht	Zucker %	Zucker g	Stickstoff g	D : N	Aceton mg	Gewicht kg	Phlorizin	Calcium aceticum	Bemerkungen
1	191	1032	—	—	6,69	—	—	14,0	—	—	
2	100	1025	—	—	2,80	—	—	—	—	—	
3	355	1042	7,52	26,70	4,82	5,5	—	13,5	2,1 g pro die	—	
4	499	1036	5,47	25,85	5,18	5,0	134	—		—	
5	428	1044	6,02	25,76	6,20	4,1	139	—		—	
6	727	1029	3,52	25,59	7,57	3,4	210	—		2,4 g pro die	
7	150	1034	2,92	4,38	1,56	2,7	106	—			Teil e. Tages

Krankheitsverlauf und Sektion: Das Tier stirbt in der Nacht des 7. Versuchstages, nachdem es vorher noch keine schweren Krankheitserscheinungen gezeigt hatte. **Sektion** (Herr Prof. **Benda**): Noch viel Bauchfett vorhanden, die Leber verfettet.

Versuch 7.

Hündin wiegt am 29. IV. 13 15,5 kg — Falksche Operation vor 14 Tagen —; erhält am 29. IV. 13 die letzte Nahrung.

Tabelle VII.

Versuchstag	Urinmenge ccm	Spez. Gewicht	Zucker %	Zucker g	Stickstoff g	D : N	Aceton mg	Gewicht kg	Phlorizin	Calciumchlorid	Bemerkungen
1	446	1040	—	—	16,982	—	—	15,5	—	—	
2	172	1034	—	—	5,052	—	—	—	—	—	
3	345	1066	9,30	32,08	7,124	4,5	157	14,5	2,8 g pro die	—	
4	384	1073	9,34	35,86	9,930	3,6	216	—		—	
5	459	1066	5,44	24,97	10,575	2,4	249	—		3,0 g pro die	
6	806	1050	3,76	30,30	14,153	2,1	371	—			
7	1030	1035	3,03	30,90	8,811	3,5	491	—			
8	889	1025	2,85	25,34	6,250	4,0	393	13,0		—	
9	1124	1025	1,83	20,13	7,272	2,8	501	—		—	
10	325	1015	0	0	0,914	—	161	11,6		—	Teil e. Tages

Krankheitsverlauf und Sektion: In den letzten 3 bis 4 Tagen Erbrechen und Mattigkeit, stirbt in der Nacht des letzten Versuchstages. Sektion: In der Niere Fettinfiltration in den Markstrahlen (Färbung mit Sudan), die Zellen nicht degenerativ verändert. In den geraden Kanälchen Kalkinfarkte. In einigen Glomeruluskapseln körnige Eiweißniederschläge, ebenso in einigen gewundenen Nierenkanälchen. Die histologische Untersuchung verdanken wir Herrn Prof. Benda.

Versuch 1 und 2 geben ein Bild des unbeeinflußten Phlorizindiabetes etwa unter den Versuchsbedingungen, die auch bei den Kalkversuchen innegehalten worden sind. Allmählich nehmen die Ausscheidungen im Harn ab. Versuch 3 und 4 zeigen, daß hohe und sehr hohe Dosen von milchsaurem Kalk einen jähen Einfluß auf den Phlorizindiabetes ausüben; die Ausscheidungen von Zucker, Stickstoff und Aceton gehen auf geringe oder Nullwerte herab, die Nierenschädigung, die auch durch das Auftreten von Eiweiß und Blut im Urin erkennbar ist, führt schnell zum Tode. Auch der Versuch 5, bei dem das Calcium lacticum schon vor dem Phlorizin dem Tiere beigebracht wurde, zeigt den Einfluß des Kalkes auf die diabetische Nierenstörung. Die Funktionsänderung hinkt immer erst der Kalkdarreichung nach, weil wohl erst ein Grad der Nierenstörung erreicht sein muß, ehe die Ausscheidungen abnehmen. Bei dem Versuch 6 mit essigsaurem Calcium ist nicht zu entscheiden, ob ein Einfluß des Kalksalzes vorhanden ist. Das Tier ist zu schnell nach dem Einsetzen der Kalkzufuhr gestorben, als daß ein Urteil möglich ist. Denn nur ein positiver Ausfall des Versuches wäre beweisend gewesen. Ganz eindeutig ist dagegen der positive Ausfall bei dem Versuch mit Calciumchlorid.

Es war nun von Interesse zu wissen, ob die verringerten Ausscheidungen, speziell die verminderte Ausscheidung des Zuckers, einer Herabsetzung der Produktion entspricht, oder ob der Zucker zwar gebildet, aber nicht ausgeschieden, sondern retiniert wird. Wir haben daher noch in mehreren Fällen in Phlorizin-Calcium-lacticum-Versuchen neben dem Zucker im Urin auch den Blutzucker untersucht und immer gefunden, daß mit der Abnahme des Urinzuckers auch ein Schwinden des Blutzuckers parallel geht. Man darf annehmen, daß die Zuckerbildung durch Phlorizin infolge der Kalkeinwirkung gehemmt wird.

Zu den von uns auf Grund unserer Versuchsergebnisse entwickelten Anschauungen passen auch recht gut die in den Tabellen zusammengestellten Quotienten D : N. Unter dem Einfluß der Kalktherapie sinken sie erheblich, man darf wohl in Übereinstimmung mit Lusk[1]) annehmen, daß dieses Sinken des Quotienten ein Ausdruck der gestörten Nierenfunktion ist. Da wir unsere Versuche in der Hauptsache mit Calcium lacticum gemacht haben, so sei noch besonders betont, daß nicht etwa die Milchsäure das Wesentliche sein kann. Damit stimmt auch überein, daß der Versuch mit Calciumchlorid ebenso wie die Calcium-lacticum-Versuche ausgefallen ist.

Neben den Wirkungen der Kalksalze auf die Nieren, die in diesen Arbeiten und in den früheren Mitteilungen unseres Laboratoriums festgestellt worden sind, werden natürlich stets die übrigen Kalkwirkungen sich geltend machen. Es wird also auch die durch Phlorizin abgeänderte Funktion der übrigen Organe durch die Kalksalze beeinflußt werden.

Endlich sei noch besonders vermerkt, daß wir in voller Absicht mit hohen Kalkdosen gearbeitet haben, um zunächst grobe Änderungen zu erzielen, weil die Untersuchungen einen Beitrag zu der pharmakologischen Kenntnis der Kalkwirkungen liefern sollten. Würde man die Absicht haben, therapeutische Effekte auszuproben, so müßte man natürlich die Versuchsbedingungen mehr physiologischen Verhältnissen anpassen.

[1]) Phlorizinglucosurie. Ergebn. d. Physiol. 12, 1912.

Einfluß des Schüttelns, der ultravioletten Strahlen und der Röntgenstrahlen auf das Komplement und den hämolytischen Amboceptor[1]).

Von

Vittorio Scaffidi.

(Aus dem Institut für Allgemeine Pathologie der Kgl. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1914.)

Jacoby und Schütze[2]) fanden, daß Schütteln des Blutserums bei einer Temperatur von 37° dessen komplementäre Tätigkeit in ungefähr 1 bis 2 Stunden zerstört; bei niedrigerer Temperatur nimmt die zur Inaktivierung erforderliche Zeit zu, und es ist nicht mehr möglich, die Inaktivierung des Komplements zu erhalten, wenn das Schütteln des Serums bei sehr niedriger Temperatur stattfindet. Zeißler[3]) veröffentlichte kurze Zeit nach der ersten Publikation von Schütze und Jacoby einige von ihm schon früher gemachte Untersuchungen, aus denen hervorgeht, daß es durch mehrere Stunden lang fortgesetztes Schütteln bei 15 bis 17° gelingt, das Komplement des menschlichen Serums zu inaktivieren, aber nicht das des Meerschweinchenserums.

Ähnliche Untersuchungen wurden in der Folge angestellt von Stühmer[4]), Noguchi und Brenfenbrenner[5]), Courmont und Dufourt[6]), Ritz[7]), Kashiwabara[8]), Abelin und Stiner[9]); durch alle diese Untersuchungen wurde die

---

[1]) Diese Untersuchungen wurden im Laboratorium des italienischen Krankenhauses zu Buenos Aires begonnen und im Institut für Allgemeine Pathologie der kgl. Universität Neapel beendet.

[2]) Jacoby und Schütze, Berl. klin. Wochenschr. 1909. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1910.

[3]) Zeißler, Berl. klin. Wochenschr. 1909.

[4]) Stühmer, Centralbl. f. inn. Med. 1910.

[5]) Noguchi und Brenfenbrenner, Journ. of experim. Med. 1911.

[6]) Courmont und Dufourt, Compt. rend. Soc. Biol. 1912.

[7]) Ritz, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1912.

[8]) Kashiwabara, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1912.

[9]) Abelin und Stiner, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1912.

ursprüngliche Beobachtung von Jacoby und Schütze und von Zeißler bestätigt; gleichzeitig wurden verschiedene Ursachen klar nachgewiesen, welche die Erscheinung auf irgendeine Weise zu modifizieren imstande sind und mithin zu einer genauen Kenntnis derselben führen können. So lenkten Jacoby und Schütze die Aufmerksamkeit auf die Beschaffenheit des Gefäßes, in dem das Schütteln vor sich geht. Zeißler gelang es, wie schon bemerkt wurde, das menschliche Serum zu inaktivieren, aber nicht das Meerschweinchenserum; Courmont und Dufourt beobachteten erhebliche Verschiedenheiten des Verhaltens nicht nur zwischen Seris von Tieren verschiedener Arten, sondern auch zwischen Seris von Tieren derselben Art; sie bemerkten ferner, daß das Schütteln des in Sauerstoffumgebung bereiteten Serums viel rascher inaktiviert, als wenn es im leeren Raum hergestellt wird. Noguchi und Brenfenbrenner studierten die Erscheinung genauer in Beziehung zur Temperatur; nach Ritz ist von Wichtigkeit die Kapazität des Gefäßes, in dem sich das Serum während des Schüttelns befindet, und die Verdünnung des Serums; Kashiwabara studierte, wie schon Jacoby und Schütze sowie Ritz es getan hatten, das Verhalten des inaktivierten Serums in bezug auf seine Bestandteile; mittleres Segment und Endsegment. Stühmer beobachtete ferner, daß der Amboceptor dem Schütteln widersteht und daß die Erythrocyten bezüglich ihres Verhaltens im hämolytischen System nicht verändert erscheinen, wenn sie dem Schütteln ausgesetzt werden. In letzter Zeit, als diese meine Mitteilungen bereits druckfertig waren, ist eine Arbeit von J. Spadolini[1]) erschienen, in welcher der Verfasser zum Schlusse kommt, daß die Inaktivierung des Komplements durch Schütteln auf Absorptionserscheinungen beruhe. Er konnte feststellen, daß Komplement inaktiviert wird, wenn man das Serum mit neutralem Öl, mit Kohlenstaub, mit Luft, Stickstoff, Sauerstoff, Wasserstoff durchschüttelt. Schütteln des Serums allein führt zu keiner Inaktivierung. Diese Ergebnisse von J. Spadolini über die Schüttelversuche an Serum zusammen mit Gasen weichen von denen, die Courmont und Dufourt in ähnlichen Versuchen erzielt haben, beträchtlich ab.

[1]) J. Spadolini, Archivio di Fisiologia, 12, 1914.

Die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf das Komplement wurde von Baroni und Jonesco-Mihaiesti[1]), von Courmont, Nogier und Dufourt[2]) und in jüngster Zeit von Abelin und Stiner[3]) studiert, und aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß die komplementäre Wirkung des Serums zerstört wird, nachdem es eine mehr oder minder lange Zeit hindurch den ultravioletten Strahlen ausgesetzt wurde. Vor kurzer Zeit, als meine Untersuchungen schon abgeschlossen waren, erschien eine Arbeit von Stiner und Abelin[4]) über die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf den hämolytischen Amboceptor, der sich widerstandsfähiger als das Komplement den ultravioletten Strahlungen gegenüber erweisen soll.

Gerhartz[5]) studierte endlich die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf das Diphtherietoxin. Aus den von ihm durchgeführten Untersuchungen ergibt sich, daß die mit bestrahltem Toxin inokulierten Kaninchen ungefähr 1 Tag nach den mit nicht den X-Strahlen ausgesetztem Toxin inokulierten Kontrollkaninchen verendeten. Aus dem Gesagten ist also zu entnehmen, daß die Untersuchungen über die Wirkung dieser drei Faktoren: Schütteln, ultraviolette Strahlen und Röntgenstrahlen nicht in angemessener Weise auf das Studium der Antikörper ausgedehnt wurden wie auf das Studium des Komplements; dieses Studium kann sich aber meiner Ansicht nach als nützlich erweisen, wenn es mit gleichförmigen Versuchskriterien und mit der gleichen Technik durchgeführt wird. Die hier folgenden Untersuchungen wurden bezüglich des hämolytischen Amboceptors an Schaferythrocyten und bezüglich des Komplements an dem des Meerschweinchenserums ausgeführt.

Einfluß des Schüttelns auf das Komplement.

Ich verwendete das Meerschweinchenserum, das bekanntlich eine Komplementmenge enthält, die als konstant betrachtet werden kann.

---

[1]) Baroni und Jonesco-Mihaiesti, Compt. rend. Soc. Biol. 1910.

[2]) Courmont, Nogier u. Dufourt, Compt. rend. Soc. Biol. 1913. Siehe auch: Doerr und Moldovan, Wiener klin. Wochenschr. 1911, Nr. 16. — Hartoch, Schürmann und Stiner, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 21, 1914.

[3]) Abelin und Stiner, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1913.

[4]) Stiner und Abelin, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1914.

[5]) Gerhartz, Berl. klin. Wochenschr. 1909

Das Serum wurde vom Blute durch Zentrifugieren getrennt und sofort zum Schütteln in ein ungefähr 50 ccm fassendes Glasgefäß gebracht. Die verwendete Serummenge betrug ca. 5 ccm. Der zum Schütteln des Serums dienende Apparat wurde durch eine kleine Turbine in Bewegung gesetzt; er führte 146 Schwingungen in der Minute aus. Jede Probe von Hämolyse wurde gleichzeitig mit drei hämolytischen Systemen gemacht, die verschiedene Amboceptormengen in den folgenden Verhältnissen enthielten:

	1. System	2. System	3. System
Amboceptor 1 %	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm
Suspension von roten Blutkörperchen 5 %	1,0 „	1,0 „	1,0 „
Komplement 10 % . . .	0,3 „	0,3 „	0,3 „
NaCl 0,85 %	1,1 „	1,0 „	0,9 „

In einem ersten Experiment wurde das Schütteln des Komplementes bei der Temperatur der Umgebung vorgenommen, die zwischen 20 und 21° schwankte.

Die die hämolytischen Systeme enthaltenden Reagensgläser wurden in Thermostaten bei 37° gehalten, bis eine vollständige Hämolyse eintrat. Als Kontrolle wurden zwei Proben mit Hämolyse gemacht, eine mit einer Probe frischen Komplementes, die sofort entnommen wurde, ehe das Serum sich im Schüttelapparat setzte, und die andere mit einer Probe desselben Komplementes, das während des Schüttelns des Serums bei der Umgebungstemperatur in Ruhe gehalten wurde.

Aus der Tabelle I ergibt sich, daß in den drei hämolytischen Systemen die Hämolyse nach 10 bis 30 Minuten eine vollständige wird, je nach der Konzentration auf dem Amboceptor, wenn in diese Systeme frisches Meerschweinchenserum eingeführt wird, und in 15 bis 35 Minuten, wenn das Komplement 42 Stunden lang bei der Umgebungstemperatur von 19,5 bis 21° gelassen wurde.

Wird dagegen in die hämolytischen Systeme geschütteltes Komplement eingeführt, so wird die Hämolyse um so später eine vollständige, je länger die Dauer des Schüttelns währte, dem das Serum unterzogen wurde. Sie wird nämlich eine vollständige in 105 bis 130 Minuten, je nach der Konzentration des Amboceptors, wenn das Schütteln des Serums 42 Stunden

lang fortgesetzt wurde. Eine erste Verzögerung der Hämolyse bemerkt man erst nach 2 stündigem Schütteln, und sie wird immer ausgeprägter in den folgenden Stunden.

Tabelle I.

Dauer des Schüttelns	Zeit, die erforderlich ist, damit die Hämolyse im Thermostaten bis 37° vollständig erfolgt			Temperatur, bei der das Schütteln vorgenommen wurde	Zahl der Schwingungen pro Minute
	Amboceptor 1 %				
	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm		
1 Stunde . . .	30′	15′	10′	20,5°	146
2 Stunden . .	30′	20′	10—15′		146
3 „ . .	35′	20′	10—15′		146
5 „ . .	35′	20′	10—15′	20,0°	146
7 „ . .	35′	20′	15′		146
17 „ . .	60′	30—35′	25′	19,5°	146
24 „ . .	85′	40′	35—40′	21,0°	146
33 „ . .	110′	70′	60′		146
42 „ . .	120′	120′	105′	21,5°	146
Kontrollen.					
Vollständig frisches Komplement, im Beginn d. Experimentes	30′	15′	10′	—	—
Komplement, 42 Stunden lang vollständig in Ruhe gehalten bei der Temperatur von 19,5 bis 21° . . .	30—35′	20′	15′	—	—

Es ergibt sich jedoch aus diesen Untersuchungen, daß, wenn das hämolytische Vermögen der Systeme, in denen das geschüttelte Komplement verwendet wurde, abnimmt, die Verzögerung nie völlig verschwindet. Diese Resultate scheinen mit denen der früheren Beobachter nicht übereinzustimmen, aber man muß bemerken, daß bei den früheren Untersuchungen insbesondere das Kriterium angewendet wurde, die Hämolyse nach 1 stündigem Verweilen im Thermostaten zu beurteilen, und daß ferner viele der früheren Untersuchungen an verdünntem Serum ausgeführt wurden. In einem neuen Experimente wurde die Zeit des Schüttelns des Serums bis auf 48 Stunden verlängert, und der Grad von Hämolyse wurde festgestellt bei Systemen, die 1 Stunde lang im Thermostaten bei 37° gehalten und dann 12 Stunden lang im Eiskeller gelassen wurden.

Tabelle II.

	Hämolyse nach 1 stündigem Verweilen im Thermostaten bei 37°			Zahl der Schwingungen pro Minute
	Amboceptor 1 % 0,1 ccm	Amboceptor 1 % 0,2 ccm	Amboceptor 1 % 0,3 ccm	
Komplement 40 Stunden lang bei 22 bis 23° geschüttelt	partiell	partiell	partiell	146
Komplement 40 Stunden lang bei 22 bis 23° in Ruhe gehalten . .	vollständig (in 40′)	vollständig (in 35′)	vollständig (in 20′)	—
Komplement 40 Stunden lang bei 10° gehalten	vollständig (in 30′)	vollständig (in 15′)	vollständig (in 10′)	—
Komplement 48 Stunden lang bei 22 bis 23° geschüttelt	gleich Null	gleich Null	gleich Null	146
Komplement 48 Stunden lang bei 22 bis 23° gehalten	vollständig (in 40′)	vollständig (in 30′)	vollständig (in 20′)	—
Komplement 48 Stunden lang bei 10° gehalten	vollständig (in 30′)	vollständig (in 15′)	vollständig (in 10′)	—

Aus der Tabelle II ergibt sich, daß in den 1 Stunde lang im Thermostaten gehaltenen hämolytischen Systemen die Hämolyse noch eine partielle ist in den Proben, die mit 40 Stunden lang geschütteltem Komplement hergestellt wurden, und gleich Null in den Proben, die mit 48 Stunden lang geschütteltem Komplement hergestellt wurden. Das 48 Stunden lang bei derselben Temperatur, bei der das Experiment durchgeführt worden war, in Ruhe gehaltene Komplement modifiziert seine Tätigkeit fast gar nicht, wie man aus der Vergleichung der Resultate der Proben von Hämolyse, die mit Serum hergestellt wurden, das im Eiskeller gehalten wurde, und denen, die mit Serum hergestellt wurden, das bei Umgebungstemperatur gehalten wurde, ersieht.

Ein letztes Experiment wurde gemacht, indem das Serum bei der Temperatur von 37° geschüttelt wurde. In diesem Experiment wurden Kontrollproben bestimmt mit Komplement,

das bei der Temperatur von 37° während desselben Zeitabschnittes, während dessen Dauer das Schütteln des Serums fortgesetzt wurde, in Ruhe gehalten worden war.

Die Schätzung des Hämolysegrades in den verschiedenen Proben erfolgte nach der colorimetrischen Methode, so daß die in Tabelle III angeführten, dem Hämolysegrad entsprechenden Zahlen einen absoluten Wert haben. Sie wurden erhalten aus der colorimetrischen Vergleichung der Flüssigkeit der verschiedenen hämolytischen Systeme mit der Flüssigkeit eines Systems, in dem die Hämolyse eine vollständige war, wobei der Färbungsintensität der Flüssigkeit der Wert 1 zugewiesen wurde. Mit jeder Serumprobe, die während des Experimentes entnommen wurde, stellte ich vier hämolytische Systeme her, die durch die verschiedene Amboceptormenge voneinander verschieden waren. Die gesamte Flüssigkeitsmenge wurde unter Zusatz physiologischer Lösung auf das Volumen von 2,5 ccm gebracht.

Die hämolytischen Systeme waren folgendermaßen zusammengesetzt:

	1.	2.	3.	4.
Amboceptor 1% . . .	0,1 ccm	0,2 ccm	0,3 ccm	0,4 ccm
10%ige Suspension von Schaferythrocyten . .	0,5 "	0,5 "	0,5 "	0,5 "
Komplement 10% . .	0,3 "	0,3 "	0,3 "	0,3 "
NaCl 0,85%	1,6 "	1,5 "	1,4 "	1,3 "
Insgesamt	2,5 ccm	2,5 ccm	2,5 ccm	2,5 ccm

Aus der Tabelle III ergibt sich, daß ein vollständiger Stillstand der Hämolyse eintritt in den Systemen, die mit einem 6 Stunden lang bei der Temperatur von 37° geschüttelten Komplement hergestellt wurden. Nach 2 stündigem Schütteln hat das Serum wenig von seiner komplementären Aktivität verloren, weil es imstande ist, Hämolyse in den verschiedenen Systemen fast mit derselben Geschwindigkeit hervorzurufen, mit der Hämolyse in den Kontrollsystemen eintritt, die mit nicht geschütteltem, bei der Temperatur von 37° gehaltenem Komplement hergestellt waren. Die Temperatur übt jedoch an und für sich einen ausgeprägten Einfluß auf die Inaktivierung des Komplements aus, wie man aus dem Vergleich der Resultate der Proben ersieht, die mit bei 37° in Ruhe gehaltenem Serum hergestellt wurden; denn während

im ersten Falle nach 6 stündigem Verweilen des Komplements bei 37° die Hämolyse in 1 Stunde nur in dem 0,3 ccm Amboceptor enthaltenden System vollständig wird und in dem 0,1 ccm enthaltenden System gleich 0,84 ist, ist die Hämolyse im zweiten Falle, d. h. in dem bei 10° gehaltenes Meerschweinchenserum verwendet wurde, schon eine vollständige in 45 Minuten, in dem ein Minimum von Amboceptor, nämlich 0,1 ccm, enthaltenden System.

Tabelle III.

	Hämolyse nach 1 stündigem Verweilen im Thermostaten bei 37°				Zahl der Schwingungen pro Minute
	Amboceptor 1% 0,1 ccm	Amboceptor 1% 0,2 ccm	Amboceptor 1% 0,3 ccm	Amboceptor 1% 0,4 ccm	
2 Stunden lang bei 37° geschütteltes Komplement	0,89	vollständig (in 50′)	vollständig (in 30′)	vollständig (in 20′)	146
2 Stunden lang bei 37° in Ruhe gehaltenes Komplement	0,93	vollständig (in 45′)	vollständig (in 25′)	vollständig (in 15′)	—
2 Stunden lang bei 10° gehaltenes Komplement	vollständig (in 45′)	vollständig (in 25′)	vollständig (in 15′)	vollständig (in 10′)	—
4 Stunden lang bei 37° geschütteltes Komplement	0,61	0,66	0,77	vollständig (in 60′)	146
4 Stunden lang bei 37° in Ruhe gehaltenes Komplement	0,87	vollständig (in 60′)	vollständig (in 35′)	vollständig (in 25′)	—
4 Stunden lang bei 10° gehaltenes Komplement	vollständig (in 45′)	vollständig (in 25′)	vollständig (in 15′)	vollständig (in 10′)	—
6 Stunden lang bei 37° geschütteltes Komplement	0	0	0	0	146
6 Stunden lang bei 37° in Ruhe gehaltenes Komplement	0,84	0,96	vollständig (in 60′)	vollständig (in 35′)	—
6 Stunden lang bei 10° gehaltenes Komplement	vollständig (in 45′)	vollständig (in 25′)	vollständig (in 15′)	vollständig (in 10′)	—

Dieser Unterschied tritt jedoch deutlicher hervor, wenn man diese Resultate mit denen vergleicht, die in den mit geschütteltem Komplement hergestellten hämolytischen Systemen erhalten wurden. In denjenigen nämlich, in denen 4 Stunden lang geschütteltes Komplement zugesetzt wurde, ist die

Hämolyse komplett nur in dem System mit dem Amboceptormaximum (0,4 ccm) und gleich 0,61 bzw. 0,66 und 0,67 in den anderen Systemen, die 0,1 bzw. 0,2 und 0,3 ccm Amboceptor enthielten; sie ist gleich Null in allen Systemen, die mit 6 Stunden lang geschütteltem Komplement hergestellt wurden.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich also, und zwar in allgemeinen Umrissen in Übereinstimmung mit dem, was die früheren Autoren gesehen haben, daß das Schütteln sicher einen zerstörenden Einfluß auf die Tätigkeit des Komplements ausübt und daß diese Einwirkung durch gesteigerte Temperatur stark erhöht wird. Dies erscheint in der Tat natürlich, wenn man an die Thermolabilität des Komplements denkt. Ferner kann man bei Vergleichung der bei den drei oben geschilderten Reihen von Untersuchungen erhaltenen Resultate leicht wahrnehmen, daß bei den Kontrollproben des bei der Umgebungstemperatur von 20—22° und bei der Temperatur von 37° in Ruhe gehaltenen Serums schon ein erheblicher Unterschied besteht zwischen den Proben, die mit dem 46 Stunden lang bei der Umgebungstemperarur gebliebenen Serum hergestellt wurden, und denen, die mit wenige Stunden lang bei 37° gehaltenem Serum hergestellt wurden. In diesen letzteren ist die Inaktivierung des Serums schon beträchtlich, während sie in den ersteren fast gleich Null ist, und dieser Unterschied entsteht ausschließlich durch die verschiedene Temperatur.

Dieser letztere Faktor erhält also eine große Bedeutung bei den Bestimmungen der Erscheinung, um so mehr, wenn man die Resultate in Erwägung zieht, die Noguchi und Brenfenbrenner[1]) erhielten, denen es nicht möglich war, das Serum durch Schütteln bei der Temperatur von 10° zu inaktivieren; deshalb würde es vielleicht eher der Natur der Erscheinung entsprechen, wenn sie auf Grund der beiden Faktoren: Temperatur und Schütteln, betrachtet würde, und wenn man annähme, daß das Schütteln imstande ist, die inaktivierende Wirkung der Temperatur zu beschleunigen. Endlich ergibt sich aus den von mir angestellten Untersuchungen, daß höchstwahrscheinlich die tiefgehenden Unterschiede wohl nicht bestehen, die Courmont und Dufourt zwischen Seris von Tieren derselben Art hinsichtlich der Einwirkung des Schüttelns auf

[1]) Noguchi und Brenfenbrenner, l. c.

die Tätigkeit des Komplements angetroffen haben; denn in den ersten beiden Experimenten, die ich mit dem Serum von 2 verschiedenen Meerschweinchen machte, erhielt ich Resultate, die als übereinstimmend betrachtet werden können.

Einfluß des Schüttelns auf den hämolytischen Amboceptor.

Die bei diesen Untersuchungen verwendete allgemeine Technik war dieselbe wie die bei den vorhergehenden Experimenten. Das Schütteln geschah in 50 ccm fassenden Gefäßen. Die Menge des geschüttelten Serums betrug 5 ccm. Der Schüttelapparat führte 146 Schwingbewegungen in der Minute aus. Das als Amboceptor verwendete Kaninchenserum war für die Schaferythrocyten hämolytisch.

Tabelle IV.

	Zeit, die erforderlich ist, damit die Hämolyse im Thermostaten bei 37° eintritt			Zahl der Schwingungen pro Minute
	Amboceptor 1% 0,1 ccm	Amboceptor 1% 0,2 ccm	Amboceptor 1% 0,3 ccm	
Hämolytisches Serum[1]), 12 Stunden lang bei 21° geschüttelt	60′	25′	15′	146
Hämolytisches Serum, 12 Stunden lang bei 21° in Ruhe gehalten	60′	25′	15′	—
Hämolytisches Serum[2]), 36 Stunden lang bei 21—22° geschüttelt . .	2 Stunden	50′	35′	146
Hämolytisches Serum, 36 Stunden lang bei 21 bis 22° in Ruhe gehalten .	2 „	50′	35′	—
Hämolytisches Serum[2]), 60 Stunden lang bei 21—23° geschüttelt . .	2 „	50′	35′	146
Hämolytisches Serum, 60 Stunden lang bei 21 bis 23° in Ruhe gehalten .	2 „	50—55′	35′	—
Hämolytisches Serum, 84 Stunden lang bei 21 bis 23° geschüttelt	2 „	50—55′	40′	146
Hämolytisches Serum, 84 Stunden lang bei 21 bis 23° in Ruhe gehalten .	2 „	50—55′	35—40′	—

[1]) Das hämolytische System enthielt 0,3 ccm einer 10%igen Komplementlösung.

[2]) Das hämolytische System enthielt 0,2 ccm einer 10%igen Komplementlösung.

Ein erstes Experiment wurde bei der Umgebungstemperatur gemacht. Zahlreiche Hämolyseproben wurden mit Amboceptorproben gemacht, die im Abstand von verschiedenen Stunden entnommen worden waren; aus jeder Probe wurden drei hämolytische Systeme bereitet, wobei in jedem die Amboceptormenge, wie bei den vorhergehenden Experimenten, verschieden war.

In den ersten Proben, die mit 12 Stunden lang geschütteltem Amboceptor hergestellt worden waren, wurden 0,03 ccm Komplement zugesetzt, und in den folgenden wurde das Komplement auf 0,02 ccm reduziert, d. h. es wurden 0,3 bzw. 0,2 ccm einer 10%igen Meerschweinchenserumlösung verwendet.

Aus Tabelle IV ergibt sich, daß der Amboceptor auf keine Weise durch das Schütteln beeinflußt wird, weil auch nach 84 Stunden seine hämolytische Tätigkeit gar nicht abgenommen hat. Dies ergibt sich klar aus dem Vergleich der Resultate der mit dem in Ruhe gehaltenen Amboceptor bereiteten Kontrollproben mit den Resultaten der mit geschütteltem Amboceptor bereiteten Proben.

Tabelle V.

	Zeit, die erforderlich ist, damit die Hämolye im Thermostaten bei 37° eintritt				Zahl der Schwingungen pro Minute
	Amboceptor 1% 0,1 ccm	Amboceptor 1% 0,2 ccm	Amboceptor 1% 0,3 ccm	Amboceptor 1% 0,4 ccm	
Hämolytisches Serum, 12 Stunden lang bei 27° geschüttelt . . .	45′	25′	15′	10′	146
Hämolytisches Serum, 12 Stunden lang bei 37° in Ruhe gehalten	45′	25′	15′	10′	—
Hämolytisches Serum, 36 Stunden lang bei 37° geschüttelt . . .	45′	25′	15′	10′	146
Hämolytisches Serum, 72 Stunden lang bei 37° geschüttelt . . .	45′	25′	15′	10′	146
Hämolytisches Serum, 72 Stunden lang bei 37° in Ruhe gehalten	45′	25′	15′	10′	—

Die gleichen Resultate wurden durch das Schütteln des Amboceptors bei 37° erhalten. Auch bei diesen Untersuchungen bewahrt nach 72stündigem Schütteln das Serum seine hämolytischen Eigenschaften unversehrt bei; und diese zeigen sich auf gar keine Weise verändert, in Übereinstimmung mit der

Thermostabilität des Amboceptors, durch das lange Verweilen bei der Temperatur von 37°, wie man den mit den Kontrollproben erhaltenen, auf Tabelle V angeführten Resultaten entnehmen kann.

Diese Resultate bestätigen also die Ansicht, daß das Schütteln die Einwirkung der Temperatur steigert und beschleunigt. Das Komplement, das, wie bekannt, verhältnismäßig schnell bei der Temperatur von 10°, auch wenn es in Ruhe gelassen wird, inaktiv wird und bei hohen Temperaturen rasch inaktiviert wird, wird nämlich durch die Wirkungen des Schüttelns um so rascher beeinflußt, je höher die Temperatur ist, während das Schütteln des Amboceptors, der bekanntlich seine Aktivität auch beibehält, wenn er höheren Temperaturen ausgesetzt wird als solchen, die imstande sind, das Komplement rasch zu inaktivieren, fortgesetztem Schütteln auch 3 Tage lang bei der Temperatur 37° widersteht, ohne daß seine Eigenschaften in irgendeiner Weise dadurch modifiziert werden.

Einfluß der ultravioletten Strahlen auf das Komplement.

Als Untersuchungsmaterial wurde das Meerschweinchenblutserum verwendet, das den ultravioletten Strahlungen in 10%iger Lösung ausgesetzt wurde. Die Komplementlösung war in einem Reagensglas aus Quarz von ungefähr 1 ccm Durchmesser enthalten.

Die zwischen dem Reagensglas und der Lampe bestehende Entfernung betrug 15 cm. Bei jedem Experiment wurde die Temperaturzunahme der Flüssigkeit berücksichtigt. Die Temperatur erreichte nach ungefähr 2 Stunden 35 bis 36° und überstieg nicht 37°. Das hämolytische System war mit Kaninchenserum bereitet, das für die Schaferythrocyten hämolytisch ist, und aus jeder Komplementprobe, die ich während der Bestrahlung entnahm, wurden drei hämolytische Systeme hergestellt, in denen die Komplementmenge folgendermaßen variierte:

	1	2	3
10%iges Komplement	0,3 ccm	0,5 ccm	1,0 ccm
10%ige Erythrocytensuspension .	0,5 „	0,5 „	0,5 „
Amboceptor 1%	0,1 „	0,1 „	0,1 „
NaCl 0,5%	1,6 „	1,4 „	0,9 „

Die Resultate sind auf Tabelle VI angeführt.

Tabelle VI.

Dauer der Bestrahlung	Hämolyse nach 1 stündigem Verweilen im Thermostaten bei 37°		
	Komplement 10% 0,3 ccm	Komplement 10% 0,5 ccm	Komplement 10% 1 ccm
20′	fast vollständig	vollständig (in 45′)	vollständig (in 30′)
40′	unvollständig	fast vollständig	vollständig (in 45′)
60′	gleich Null	unvollständig	fast vollständig
120′	gleich Null	gleich Null	gleich Null
Kontrolle:			
Frisches Komplem.	vollständig	vollständig (in 45′)	vollständig (in 30′)
2 Std. lang bei 37° gehaltenes Komplement	vollständig	vollständig (in 50′)	vollständig (in 40′)

Die Hämolyse tritt gar nicht ein, wenn das Komplement ungefähr 2 Stunden bestrahlt wurde; nach dieser Zeit erfolgt Stillstand der Hämolyse, auch in dem System, in das eine beträchtliche Komplementmenge gebracht wurde.

In dem System, das weniger Komplement enthielt (0,3 ccm einer 10%igen Lösung), kommt die Hämolyse schon zum Stillstand, nachdem das Komplement den ultravioletten Strahlen 60 Minuten lang ausgesetzt war.

Tabelle VII.

Dauer der Bestrahlung	Zeit, die erforderlich war, um die Hämolyse im Thermostaten bei 37° zu erhalten	
	Komplement 10% 0,3 ccm	Komplement 10% 1 ccm
20′	60′	30′
40′	70′	30′
60′	nach 100′ keine Hämolyse	100′
80′	nach 4h keine Hämolyse	nach 4h keine Hämolyse
Kontrollen:		
Frisches Komplem.	45′	25′
1 Std. lang bei 37° gehaltenes Komplement	45′	30′

Eine genauere Schätzung läßt sich nach den Resultaten eines anderen Experiments vornehmen, in dem die mit den verschiedenen Proben bestrahlten Serums bereiteten hämolytischen Systeme sehr lange im Thermostaten bei 37° gelassen

wurden, bis man nämlich logischerweise annehmen konnte, daß ein längeres Verweilen bei 37° keinen Einfluß auf den Ausgang des hämolytischen Vorgangs ausgeübt haben würde. Bei diesem Experiment wurden mit jeder vor und während der Bestrahlung entnommenen Komplementprobe zwei hämolytische Systeme bereitet, die 0,3 ccm bzw. 1 ccm einer 10%igen Lösung von Meerschweinchenblutserum enthielten.

Aus diesen letzteren Untersuchungen ergibt sich, daß die Inaktivierung des Komplements durch Einwirkung der ultravioletten Strahlen nach einer Bestrahlung von 60 bis 80 Minuten eine absolut vollständige ist. In dem hämolytischen System, das 1 ccm von 60 Minuten lang bestrahltem Komplement enthält, tritt noch Hämolyse ein nach einem Verweilen von 1 Stunde 40 Minuten im Thermostaten. Das 1 Stunde 20 Minuten lang bestrahlte Komplement ergibt keine Hämolyse mehr, auch wenn man das hämolytische System 4 Stunden lang im Thermostaten läßt.

Einfluß der ultravioletten Strahlen auf den hämolytischen Amboceptor.

Die Untersuchungen wurden am Blutserum von Kaninchen ausgeführt, das für die Erythrocyten des Schafes hämolytisch ist.

Die experimentelle Anordnung war die gleiche wie die bei den Untersuchungen über das Komplement.

Der Amboceptor wurde den ultravioletten Strahlen in 10%iger Lösung von 0,85% NaCl ausgesetzt.

Mit den vor dem Experiment oder während desselben entnommenen verschiedenen Proben wurden zwei hämolytische Systeme bereitet, nämlich:

	1	2
1%iger Amboceptor	0,1 ccm	0,2 ccm
Erythrocytensuspension 10% . .	0,5 „	0,5 „
Komplement 10%	0,5 „	0,5 „
NaCl 0,85%	1,4 „	1,3 „

Die Resultate sind in der Tabelle VIII angegeben.

Aus der Tabelle VIII ergibt sich, daß die ultravioletten Strahlen eine leichte inaktivierende Wirkung auf den hämolytischen Amboceptor ausüben, weil man nach ca. 1½ stündiger Bestrahlung wahrnimmt, daß in den mit dem bestrahlten Amboceptor bereiteten

hämolytischen Systemen eine Verzögerung in der Vervollständigung der Analyse eintritt. Diese Verzögerung zeigt sich immer ausgeprägter in den hämolytischen Systemen, die mit den Proben des eine längere Zeit hindurch bestrahlten Amboceptors bereitet wurden. Nachdem die beiden, 0,1 bzw. 0,2 ccm einer 1%igen Amboceptorlösung enthaltenden hämolytischen Systeme den ultravioletten Strahlen 4 Stunden lang ausgesetzt sind, tritt Hämolyse in 50 bzw. 35 Minuten ein, während in den nicht mit Amboceptor bereiteten Kontrollen Hämolyse in 25 bzw. 10 Minuten eintritt. Es zeigt sich also ein erheblicher Unterschied gegenüber dem, was bezüglich des Komplements eintritt, weil dieses nach 60 bis 80 Minuten dauernder Bestrahlung vollständig inaktiviert wird, während die Bestrahlung des Amboceptors, auch wenn sie 4 Stunden lang andauert, in ihm nur eine leichte Abnahme seiner Tätigkeit herbeiführt. Diesen Unterschied zwischen Amboceptor und Komplement kann man als einen absoluten betrachten, weil die Versuchsbedingungen, einschließlich des Verdünnungsgrades des Serums, für beide die gleichen waren, was bei Untersuchungen mit Bestrahlungen einen sehr großen Wert für das große Absorptionsvermögen der Proteine den ultravioletten Strahlen gegenüber hat, so daß die Teilchen der tiefsten Schichten durch die Teilchen der oberflächlichsten Schichten beschützt werden.

Tabelle VIII.

Den ultravioletten Strahlen ausgesetzt	Zeit, bis die Hämolyse vollständig ist, im Thermostaten bei 37°	
	Amboceptor 1% 0,1 ccm	Amboceptor 1% 0,2 ccm
10′	20′	10′
20′	30′	10′
30′	20′	—
40′	20′	—
60′	20′	—
90′	30′	—
160′	40′	—
240′	50′	35′
Kontrollen:		
Amboceptor bei 10° gehalten . .	20′	10′
Amboceptor 90′ lang in 10%iger Lösung gehalten	20′	—
Amboceptor 200′ lang in 10%iger Lösung bei 35° gehalten . . .	25′	10′

Indem ich eben diese Eigenschaften der Kolloide den ultravioletten Strahlen gegenüber berücksichtigte, machte ich einen weiteren Versuch, indem ich das zu 1% verdünnte hämolytische Serum in physiologischer Lösung der Bestrahlung aussetzte.

Es wurden mit jeder Probe von bestrahltem Serum und normalem Kontrollserum zwei hämolytische Systeme bereitet, nämlich:

	1.	2.
Amboceptor 1%	0,1 ccm	0,3 ccm
Erythrocytensuspension 10% .	0,5 „	0,5 „
Komplement 10%	0,5 „	0,5 „
NaCl zu 0,85%	1,4 „	1,2 „

Die Resultate sind auf Tabelle IX zusammengestellt.

Tabelle IX.
Amboceptor 1%.

Bestrahlungszeit	Hämolyse nach 1stündigem Verweilen im Thermostaten bei 37°	
	Amboceptor 1% 0,1 ccm	Amboceptor 1% 0,3 ccm
30′	schwach	unvollständig
60′	gleich Null	partiell
90′	gleich Null	gleich Null
Kontrollen: Normaler Amboceptor	vollständig in 35′	vollständig in 25′

Aus der Tabelle IX ergibt sich, daß schon nach 30 Minuten dauernder Bestrahlung eine Verzögerung der Hämolyse eintritt. Während in den beiden mit nicht bestrahltem Amboceptor bereiteten Kontrollsystemen die Hämolyse schon nach 25 bis 35 Minuten eine vollständige ist, ist sie in den mit eine halbe Stunde lang bestrahltem hämolytischen Serum bereiteten entsprechenden Systemen unvollständig. In dem 0,001 ccm Amboceptor enthaltenden System tritt Hämolysestillstand schon nach einer 60 Minuten dauernden Bestrahlung ein; die Hämolyse ist negativ auch in dem 0,003 ccm Amboceptor enthaltenden System, nach einer 90 Minuten dauernden Bestrahlung.

Diese Bestrahlungszeit, die erforderlich ist, um den Amboceptor in 1%iger Verdünnung zu inaktivieren, ist fast der Zeit gleich, die zur Inaktivierung des Komplements in 10%iger

Verdünnung erforderlich ist; für den Amboceptor ist mithin eine zehnmal stärkere Verdünnung erforderlich, damit er von den ultravioletten Strahlen inaktiviert wird, in derselben Zeit, in der das Komplement inaktiviert wird. Der Mechanismus, mit dem die ultravioletten Strahlen auf bestimmte vitale oder biologische Eigenschaften des lebenden Protoplasmas einwirken, ist gewiß nicht bekannt. Es ergibt sich jedoch klar, daß sie imstande sind, in den organischen Stoffen tiefgehende Modifikationen herbeizuführen, die die Entwicklung der biologischen Erscheinungen unmöglich machen. Diese schädliche Wirkung wird verursacht durch den Widerstand, den diese Stoffe den ultravioletten Bestrahlungen entgegensetzen, der mehr oder minder intensiv ist, je nach den besonderen Eigenschaften eines jeden Stoffes. Unzweifelhaft müssen bei den von mir bei den vorliegenden Untersuchungen beobachteten Tatsachen zwei Reihen von Faktoren angenommen werden, nämlich der Widerstand, den die in der Lösung enthaltenen Kolloide den Strahlen ententgegensetzen — und dieser ist von gleicher Beschaffenheit und Intensität, sowohl in den Komplement-Serumlösungen als in den Lösungen von hämolytischem Serum — und einen Widerstand, der eng an die verschiedene Natur des Hämolysins und des Komplements gebunden ist, und dieser ist offenbar intensiver für letzteres als für ersteres.

Einwirkung der Röntgenstrahlen auf das Komplement und den hämolytischen Amboceptor.

Proben von hämolytischen Seris und Komplement wurden, in Glasröhren eingeschlossen, den Strahlen einer Crookesschen Röhre während einer veränderlichen Zeit ausgesetzt. Die Entfernung der Serumproben von der Lampe betrug ungefähr 10 cm.

Als Komplement wurde frisches Meerschweinchenserum verwendet, als Amboceptor Kaninchenserum, das für Schaferythrocyten hämolytisch ist.

Das hämolytische System war folgendermaßen zusammengesetzt:

Amboceptor 1%	0,2 ccm
Komplement 10%	0,3 „
Erythrocytenemulsion 10% . .	0,5 „
NaCl 0,85%	1,5 „

Tabelle X.

Amboceptor		Komplement	
Bestrahlungszeit	Hämolyse bei 37° nach	Bestrahlungszeit	Hämolyse bei 37° nach
10′	20′	10′	20′
20′	15′	20′	20′
30′	15 bis 20′	30′	20′
40′	20′	40′	20′
50′	15′	50′	20′
60′	15′	60′	20′
90′	20′	90′	20′
120′	20′	120′	20′

Kontrollen:
Amboceptor und Komplement nicht bestrahlt: Hämolyse in 20′.

Die aus diesen Untersuchungen erhaltenen Resultate sind negativ, sowohl für das Komplement als für den Amboceptor. In den von 10 Minuten bis zu 2 Stunden, nachdem die Crookessche Röhre den Strahlungen ausgesetzt war, entnommenen verschiedenen Proben bemerkt man nicht mehr den leichtesten Unterschied in der Zeit, die zum Eintritt der Hämolyse erforderlich ist, im Vergleich mit den Kontrollen, die mit Amboceptor und nicht bestrahltem Komplement bereitet wurden.

Diese Untersuchungen können nicht direkt mit den Untersuchungen Gerhartz' über das Diphtheritoxin verglichen werden, auf Grund deren dieser Autor auf eine partielle Inaktivierung des bestrahlten Toxins schließt, weil sie an Material von verschiedener Beschaffenheit angestellt wurden; auch nicht mit den Resultaten der Untersuchungen von Löwen[1]), Fränkel[2]) u. a., weil diese sich auf die Modifikationen beziehen, welche die X-Strahlen im blutbildenden System der lebenden Tiere und mithin demzufolge auf die komplementären und schützenden Eigenschaften des Serums herbeiführen.

Übrigens erklären sich die von mir erhaltenen negativen Resultate leicht, wenn man an das starke Strahlungsvermögen der X-Strahlen denkt, von denen die Kolloide des Serums durchdrungen werden, ohne einen bemerkenswerten Widerstand entgegenzusetzen und mithin ohne Energieumwandlung zu veranlassen, was, wie man annehmen muß, bei den ultravioletten Strahlen der Fall ist.

[1]) Löwen, Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 19, 1908.
[2]) Fränkel, Berl. klin. Wochenschr. 1902.

Schlußfolgerungen.

1. Das Schütteln übt eine schädliche Wirkung auf das komplementäre Vermögen des Serums aus.

2. Diese Wirkung ist ausgeprägter, wenn die Temperatur hoch ist; der Faktor Temperatur spielt ohne Zweifel eine wichtige Rolle bei der Erscheinung.

3. Der hämolytische Amboceptor wird durch Schütteln in keiner Weise modifiziert, auch wenn es drei Tage lang ohne Unterbrechung fortgesetzt wird und bei der Temperatur von 37° erfolgt, bei der das Komplement nach einigen Stunden vollständig inaktiviert wird.

4. Die ultravioletten Bestrahlungen inaktivieren das Komplement und sie inaktivieren auch den hämolytischen Amboceptor in demselben Zeitabschnitt, vorausgesetzt, daß der Amboceptor sich in einer Verdünnung vorfindet, die zehnmal größer als das Komplement ist.

5. Jedenfalls sieht man, daß das Komplement empfindlicher als der Amboceptor ist, nicht nur gegen die Temperatur und das Schütteln, sondern auch den ultravioletten Strahlen gegenüber, und dies gestattet in allgemeinen Ausdrücken zu behaupten, daß von diesen beiden Gruppierungen von Molekülen, Komplement und Amboceptor, die erstere leichter als die zweite durch irgendeine schädliche oder für die Proteine denaturierende Einwirkung zerstört wird, sei es nun die Temperatur oder das Schütteln oder das ultraviolette Licht.

6. Die X-Strahlen modifizieren weder die komplementäre Tätigkeit des normalen Serums noch die hämolytische Tätigkeit des bereiteten Serums.

7. Dieser verschiedene Einfluß der ultravioletten Strahlen und der Röntgenstrahlen auf das Komplement und den Amboceptor könnte davon abhängen, daß die ersteren sehr leicht von den Proteinen absorbiert werden, während die letzteren diese Stoffe mit großer Leichtigkeit durchdringen können, weshalb, während mit den X-Strahlen keine Energieumwandlung eintritt, die ultravioletten Strahlen tiefgehende Veränderungen bei den vitalen und biologischen Eigenschaften der lebenden Albumine herbeiführen.

Über die gärungshemmende Wirkung der Wasserstoffionen.

Von

Erik Hägglund.

(Eingegangen am 16. Dezember 1914.)

Mit 5 Figuren im Text.

In einer neuerdings publizierten Arbeit über „Hefe und Gärung in ihrer Abhängigkeit von Wasserstoff- und Hydroxylionen"[1]) habe ich durch kritische Zusammenstellung von früheren Versuchsresultaten und durch Ausführung neuer Versuche die Bedeutung und Wirkung der Säuren mit der Ionenlehre als theoretische Grundlage klarzulegen versucht. Bezüglich der gärungshemmenden Wirkung der Säuren wurde festgestellt, daß in einigen Fällen außer den Wasserstoffionen auch die Anionen bzw. die undissoziierten Anteile sich in erheblichem Grade bei der Wirkung beteiligen. Dies wurde z. B. bei den niederen Gliedern der Fettsäurenreihe beobachtet. Salzsäure und Schwefelsäure übten dagegen eine Wirkung aus, die nur auf ihre Wasserstoffionen zurückzuführen war. Dies wurde auch für Milchsäure erwiesen. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde diese Säure ausschließlich benutzt.

Der Gegenstand dieser Untersuchung war in erster Linie, zu sehen, ob die mehr oder weniger große Hemmung, die von verschiedenen Konzentrationen von Milchsäure hervorgerufen wird, in direkter Beziehung mit der Wasserstoffionenkonzentration der Gärflüssigkeit gesetzt werden konnte.

Als Maß der Hemmung wurde dabei die Herabsetzung der relativen Gärungsgeschwindigkeit nach 2 Stunden Gärdauer angewandt.

---

[1]) Sammlung chemischer und chemisch-technischer Vorträge. **21**, H. 4, 1914. — Hägglund, Akademische Abhandlung. Stockholm 1914.

Es sei hier bemerkt, daß die „relative Gärungsgeschwindigkeit“ in folgender Weise definiert wurde.

Wenn die Gärungsgeschwindigkeit, d. h. die Kohlensäureentwicklung pro Zeiteinheit, in der säurefreien Lösung mit h_1 und in der säurehaltigen Lösung mit h_2 bezeichnet wird, so ist h_2/h_1 die relative Gärungsgeschwindigkeit. Wenn also bei den Zeiten t und t_1 die Kohlensäurevolumen v und v_1 sind, so ist

$$\frac{dCO_2}{dt} = h_1 = \frac{v - v_1}{t - t_1},$$

ein Wert, der bei der Zeit $\frac{t + t_1}{2}$ als gültig zu betrachten ist.

Bei diesen Untersuchungen wurde auch der Einfluß der Temperatur zwischen 20° und 40° auf die gärungshemmende Wirkung der Milchsäure untersucht. Auf diesem Gebiet liegen keine quantitativen Messungen vor. Aus einigen orientierenden Versuchen von Bokorny[1]) kann man sehen, daß die Schädlichkeit von Schwefelsäure durch eine Temperatursteigerung von 20° auf 40° zunimmt.

Versuche.

Die Kohlensäureentwicklung der Gärung wurde volumetrisch gemessen. Die Gärkolben standen in einem Thermostaten und waren durch Capillarröhren mit Gasbüretten verbunden, die in 0,1 ccm geteilt waren und die Quecksilber als Absperrungsflüssigkeit enthielten. Die Gärung geschah bei einem Unterdruck von 15 cm Quecksilber. Die Ablesungen wurden im allgemeinen alle 60 Minuten vorgenommen. Vor der Ablesung wurden die Gärkolben bei Unterdruck so lange kräftig geschüttelt, bis keine Senkung der Quecksilbersäule merkbar war. Das angegebene Kohlensäurevolumen bezieht sich auf die Zimmertemperatur 18°. Bei den Versuchen wurden in jeden Gärkolben — Erlenmeyerkolben von 100 ccm — 20 ccm 10%ige Glucoselösung und 5 ccm Milchsäure von verschiedener Konzentration zugesetzt. Die Hefemenge bei jedem Ver-

[1]) Nach Kohl, „Die Hefepilze“, S. 214. Leipzig 1908.

such war 1 g. Die Hefe war obergärige Hefe R XII, die in vorzüglicher Reinheit von der Hefezuchtanstalt des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin geliefert wurde. Diese Heferasse habe ich bei früheren Untersuchungen über die Säurewirkung studiert.

Gewöhnlich wurden zwei Parallelversuche für jede Säurekonzentration und Temperatur ausgeführt. Das Mittel aus diesen Werten ist in den folgenden Tabellen angegeben. Die Abweichungen der Parallelversuche voneinander waren durchweg sehr klein.

Die Wasserstoffionenkonzentrationen wurden nach Sörensen[1]) mit Indicatoren gemessen. Als Vergleichsflüssigkeiten wurde Glykokoll-Salzsäure bzw. Citrat-Salzsäuremischungen gebraucht. Die Messungen wurden bei 20° ausgeführt. Die Konzentrationen der Wasserstoffionen wurden vor dem Zusatz der Hefe und 1 sowie 3 Stunden nach dem Zusatz gemessen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen gehen aus folgender Tabelle hervor.

Tabelle I.

Nummer	40 ccm 10%ige Glucoselösung + 10 ccm Milchsäurelösung					
	Ohne Hefe		1 Stunde nach Zusatz von 2 g Hefe		3 Stunden nach Zusatz von 2 g Hefe	
	p_H	H˙-Konz.	p_H	H˙-Konz.	p_H	H˙-Konz.
1	2,78	$1,7 \cdot 10^{-3}$	2,86	$1,4 \cdot 10^{-3}$	2,95	$1,2 . 10^{-3}$
2	2,49	$3,2 \cdot 10^{-3}$	2,65	$2,2 \cdot 10^{-3}$	2,76	$1,7 \cdot 10^{-3}$
3	2,39	$4,1 \cdot 10^{-3}$	2,44	$3,6 \cdot 10^{-3}$	2,60	$2,5 \cdot 10^{-3}$
4	2,19	$6,5 \cdot 10^{-3}$	2,23	$5,9 \cdot 10^{-3}$	2,39	$4,1 \cdot 10^{-3}$
5	2,17	$6,8 \cdot 10^{-3}$	2,17	$6,8 \cdot 10^{-3}$	2,28	$5,8 \cdot 10^{-3}$
6	2,13	$7,4 \cdot 10^{-3}$	2,13	$7,4 \cdot 10^{-3}$	2,14	$7,3 \cdot 10^{-3}$

Bei den folgenden Bestimmungen ist mit dem Mittel der Wasserstoffkonzentration bei einer Gärdauer von 1 und 2 Stunden gerechnet.

In den folgenden Tabellen sind die Resultate der Gärversuche in reiner Zuckerlösung mit dem Buchstaben *A* bezeichnet.

[1]) S. P. L. Sörensen, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet 8, 1, 1909. — Diese Zeitschr. 21, 144, 1909. — Asher-Spiro, Ergebnisse d. Physiol. 12, 393, 1912.

Versuchsreihe 1.

Temp. 40^0.

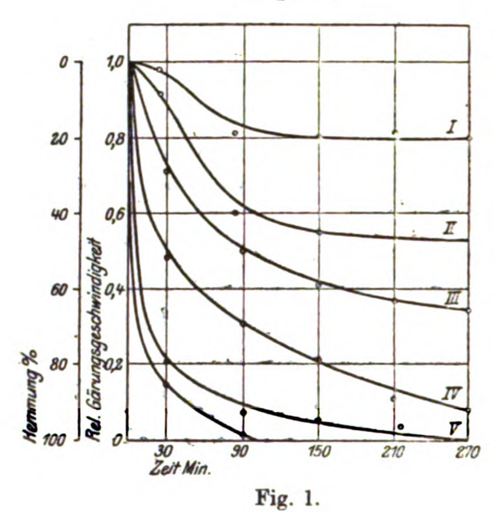


Fig. 1.

Tabelle II.

Zeit	Kubikzentimeter Kohlensäure			Zeit	Kubikzentimeter Kohlensäure					
Min.	*A*	1.	2.	Min.	*A*	3.	4.	*A*	5.	6.
46	50,5	49,5	47,2	60	61,7	43,7	29,3	59,7	12,7	9,0
120	116,7	103,6	87,0	120	119,2	73,1	47,5	114,9	17,0	10,0
180	172,7	148,2	117,8	180	174,6	95,9	59,6	167,2	19,8	10,0
240	223,8	189,6	147,2	240	226,6	115,0	65,2	215,9	21,9	10,0
300	275,6	230,2	175,0	300	277,6	132,8	69,2	263,4	21,9	10,0

Tabelle III.

Zeit	Gärungsgeschwindigkeit			Relative Gärungsgeschw.		Zeit	Gärungsgeschwindigkeit			Relative Gärungsgeschw.		Gärungsgeschwindigkeit			Relative Gärungsgeschw.	
Min.	*A*	1.	2.	1.	2.	Min.	*A*	3.	4.	3.	4.	*A*	5.	6.	5.	6.
23	1,10	1,08	1,03	**0,98**	**0,94**	30	1,03	0,73	0,49	**0,71**	**0,48**	1,00	0,210	0,15	**0,21**	**0,150**
83	0,90	0,73	0,54	**0,81**	**0,60**	90	0,96	0,49	0,30	**0,51**	**0,31**	0,92	0,072	0,017	**0,078**	**0,019**
150	0,93	0,74	0,51	**0,80**	**0,55**	150	0,92	0,38	0,20	**0,41**	**0,22**	0,87	0,047	0,000	**0,054**	**0,000**
210	0,85	0,69	0,49	**0,81**	**0,58**	210	0,87	0,32	0,093	**0,37**	**0,11**	0,81	0,035	0,000	**0,043**	**0,000**
270	0,86	0,68	0,46	**0,80**	**0,53**	270	0,85	0,30	0,067	**0,35**	**0,079**	0,79	0,000	0,000	**0,000**	**0,000**

Versuchsreihe 2.

Temp. 38°.

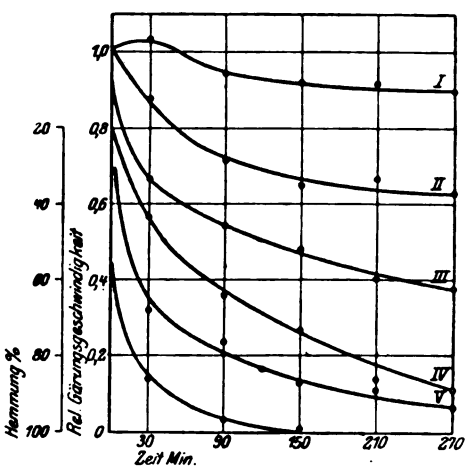


Fig. 2.

Tabelle IV.

Zeit Min.	Kubikzentimeter Kohlensäure *A*	2.	3.	*A*	1.	5.	*A*	4.	6.
60	54,0	47,4	36,0	49,2	50,9	15,6	54,8	31,0	7,8
120	106,8	79,1	64,9	100,7	99,7	28,1	111,3	51,3	9,8
180	157,9	112,1	89,5	152,4	147,3	35,0	163,1	65,1	10,0
240	206,8	145,1	110,0	201,1	192,4	40,6	213,9	73,0	10,0
300	253,2	174,0	124,4	249,8	235,3	43,5	259,9	77,7	10,0

Tabelle V.

Zeit	Gärungsgeschwindigkeit			Relative Gärungsgeschw.		Gärungsgeschwindigkeit			Relative Gärungsgeschw.		Gärungsgeschwindigkeit			Relative Gärungsgeschw.	
Min.	*A*	2.	3.	2.	3.	*A*	1.	5.	1.	5.	*A*	4.	6.	4.	6.
30	0,90	0,79	0,60	**0,88**	**0,67**	0,82	0,85	0,26	**1,04**	**0,32**	0,91	0,52	0,130	**0,57**	**0,140**
90	0,88	0,63	0,48	**0,72**	**0,55**	0,86	0,81	0,21	**0,94**	**0,24**	0,94	0,34	0,033	**0,36**	**0,035**
150	0,85	0,55	0,41	**0,65**	**0,48**	0,86	0,79	0,115	**0,92**	**0,13**	0,86	0,23	0,003	**0,27**	**0,003**
210	0,82	0,55	0,34	**0,67**	**0,41**	0,81	0,75	0,093	**0,92**	**0,11**	0,87	0,12	0,000	**0,14**	**0,000**
270	0,77	0,48	0,28	**0,62**	**0,37**	0,81	0,72	0,048	**0,89**	**0,06**	0,84	0,085	0,000	**0,10**	**0,000**

Versuchsreihe 3.

Temp. 35°.

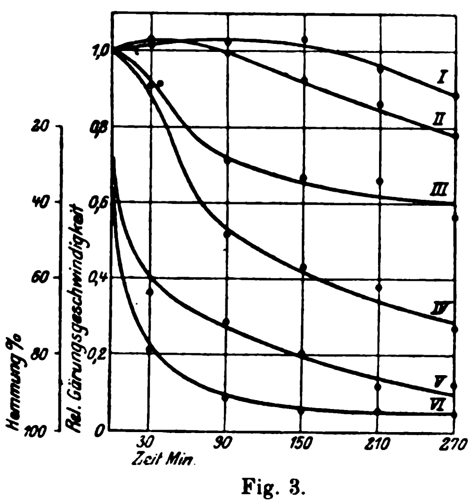


Fig. 3.

Tabelle VI.

Zeit Min.	Kubikzentimeter Kohlensäure A	1.	2.	A	3.	4.	A	5.	6.
60	43,3	43,8	44,0	46,2	40,4	42,2	46,2	16,8	9,7
120	89,8	92,0	88,2	102,4	80,8	71,7	94,6	30,6	13,5
180	136,1	139,1	130,8	155,4	116,4	94,4	145,8	40,5	16,4
240	182,2	182,9	170,2	208,1	151,2	114,3	196,5	50,4	19,3
300	222,8	218,3	201,4	254,7	177,8	126,5	237,6	55,2	21,5

Tabelle VII.

Zeit	Gärungsgeschwindigkeit			Rel. Gärungsgeschw.		Gärungsgeschwindigkeit			Rel. Gärungsgeschw.		Gärungsgeschwindigkoit			Rel. Gärungsgeschw.	
Min.	A	1.	2.	1.	2.	A	3.	4.	3.	4.	A	5.	6.	5.	6.
30	0,72	0,73	0,73	**1,01**	**1,01**	0,77	0,67	0,70	**0,87**	**0,91**	0,77	0,28	0,160	**0,36**	**0,210**
90	0,78	0,80	0,77	**1,02**	**0,99**	0,94	0,67	0,49	**0,71**	**0,52**	0,81	0,23	0,063	**0,39**	**0,078**
150	0,77	0,79	0,71	**1,03**	**0,92**	0,88	0,59	0,38	**0,67**	**0,43**	0,85	0,17	0,048	**0,20**	**0,056**
210	0,77	0,73	0,66	**0,95**	**0,86**	0,88	0,58	0,33	**0,66**	**0,38**	0,85	0,09	0,047	**0,11**	**0,055**
270	0,68	0,59	0,52	**0,88**	**0,77**	0,78	0,44	0,20	**0,56**	**0,26**	0,69	0,08	0,033	**0,12**	**0,048**

Versuchsreihe 4.

Temp. 30°.

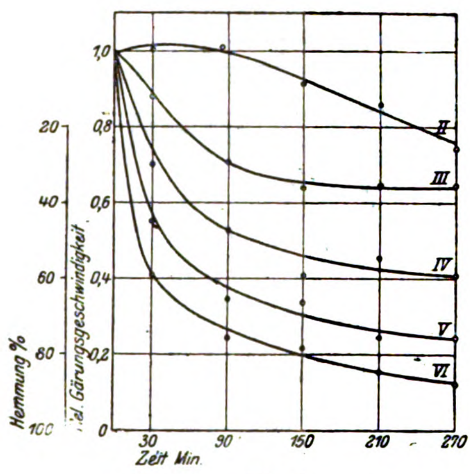


Fig. 4.

Tabelle VIII.

Zeit	Kubikzentimeter Kohlensäure							
Min.	*A*	2.	*A*	3.	**4.**	***A***	**5.**	6.
60	43,2	43,3	44,0	38,2	**30,6**	**46,8**	**26,4**	19,2
120	85,2	85,9	93,6	73,8	**56,1**	**90,0**	**41,4**	29,4
180	128,0	123,1	142,0	104,7	**76,0**	**130,8**	**55,2**	38,4
240	167,0	156,7	189,8	136,1	**97,9**	**169,0**	**64,8**	44,4
300	205,4	185,5	234,5	165,7	**116,4**	**208,0**	**74,4**	49,1

Tabelle IX.

Zeit	Gärungsgeschwindigkeit		Rel. Gärungsgeschw.	Gärungsgeschwindigkeit			Rel. Gärungsgeschw.		Gärungsgeschwindigkeit			Rel. Gärungsgeschw.	
Min.	*A*	2.	2.	*A*	3.	4.	3.	4.	*A*	5.	6.	5.	6.
30	0,72	0,72	**1,00**	0,73	0,64	0,51	**0,88**	**0,70**	0,78	0,44	0,32	**0,56**	**0,41**
90	0,70	0,71	**1,01**	0,83	0,59	0,44	**0,71**	**0,53**	0,72	0,25	0,17	**0,35**	**0,24**
150	0,68	0,62	**0,91**	0,81	0,52	0,33	**0,64**	**0,41**	0,68	0,23	0,15	**0,34**	**0,22**
210	0,65	0,56	**0,86**	0,80	0,52	0,37	**0,65**	**0,46**	0,65	0,16	0,10	**0,25**	**0,16**
270	0,64	0,48	**0,75**	0,75	0,49	0,31	**0,65**	**0,41**	0,65	0,16	0,078	**0,25**	**0,12**

Versuchsreihe 5.

Temp. 20°.

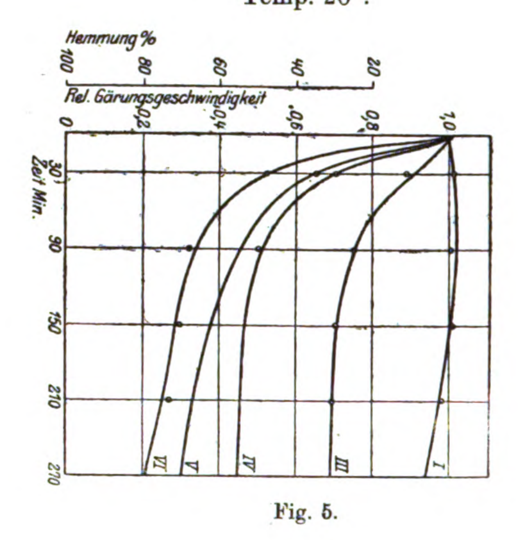


Fig. 5.

Tabelle X.

Zeit Min.	Kubikzentimeter Kohlensäure							
	A	1.	3.	*A*	4.	6.	*A*	5.
60	17,2	17,4	15,1	17,6	12,3	8,0	17,4	11,5
120	33,7	33,9	27,5	34,8	20,9	12,9	35,0	19,6
180	49,8	50,2	38,8	52,3	29,3	18,1	52,4	26,2
240	66,6	66,7	50,4	70,5	37,7	22,8	69,6	31,9
300	82,9	82,0	61,6	87,6	45,4	26,1	86,7	37,0

Tabelle XI.

Zeit	Gärungsgeschwindigkeit			Rel. Gärungsgeschw.		Gärungsgeschwindigkeit			Rel. Gärungsgeschw.		Gärungsgeschwindigkeit		Rel. Gärungsgeschw.
Min.	*A*	1.	3.	1.	3.	*A*	4.	6.	4.	6.	*A*	5.	5.
30	0,29	0,29	0,25	**1,01**	**0,88**	0,29	0,210	0,130	**0,70**	**0,46**	0,29	0,190	**0,66**
90	0,28	0,28	0,21	**1,00**	**0,75**	0,29	0,143	0,082	**0,50**	**0,32**	0,30	0,140	**0,46**
150	0,27	0,27	0,19	**1,01**	**0,70**	0,30	0,140	0,083	**0,47**	**0,30**	0,29	0,110	**0,38**
210	0,26	0,26	0,18	**0,98**	**0,69**	0,30	0,140	0,082	**0,46**	**0,27**	0,29	0,095	**0,33**
270	0,27	0,25	0,19	**0,94**	**0,69**	0,29	0,128	0,055	**0,44**	**0,19**	0,29	0,085	**0,29**

Aus den obenerwähnten Tabellen und Figuren habe ich folgende Hemmungswerte entnommen. Es wurde ferner angenommen, daß die Wasserstoffionenkonzentration bei 20° und 40° gleich groß ist, eine Annahme, die begründet ist, da der Dissoziationsgrad in diesem Falle in diesem Temperaturintervall nicht wesentlich geändert wird.

Tabelle XII.

Nr.	Temp. 40°		
	H˙-Ionen-konzentration (c)	Hemmung in % (p) nach 2 Std.	$K = p/c \cdot 10^3$
1	$1{,}3 \cdot 10^{-3}$	19,0	13,9
2	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	42,5	21,2
3	$3{,}1 \cdot 10^{-3}$	54,5	17,6
4	$5{,}0 \cdot 10^{-3}$	75,0	15,0
5	$6{,}1 \cdot 10^{-3}$	94,0	15,4
6	$7{,}3 \cdot 10^{-3}$	—	—
		Mittel	**16,6**

Tabelle XIII.

Nr.	Temp. 38°		Temp. 35°	
	Hemmung in % (p) nach 2 Std.	$K = p/c \cdot 10^3$	Hemmung in % (p) nach 2 Std.	$K = p/c \cdot 10^3$
1	7,0	[5,4]	—	—
2	31,0	15,5	4,0	[2,0]
3	49,0	15,8	32,0	10,3
4	69,0	13,8	53,0	10,6
5	83,0	13,6	77,0	12,2
6	99,7	13,7	93,0	12,7
Mittel	—	**14,5**	—	**11,5**

Tabelle XIV.

Nr.	Temp. 30°		Temp. 20°	
	Hemmung in % (p) nach 2 Std.	$K = p/c \cdot 10^3$	Hemmung in % (p) nach 2 Std.	$K = p/c \cdot 10^3$
2	4,0	[2,0]	—	—
3	33,0	10,7	28,0	9,0
4	51,0	10,2	51,0	10,2
5	67,0	11,0	59,0	9,7
6	78,0	10,4	70,0	9,6
Mittel	—	**10,7**	—	**9,6**

Aus diesen Tabellen geht deutlich hervor, daß die Hemmungswerte den vorhandenen Konzentrationen

der Wasserstoffionen proportional sind. Bei den Wasserstoffionenkonzentrationen, die nur eine sehr kleine Hemmung hervorriefen, waren die Hemmungswerte zu klein, um in diese Regel eingeordnet zu werden. Die Konzentrationen der $H^{\cdot}$-Ionen, von denen hier die Rede ist, liegen indessen der Konzentration sehr nahe, die eine optimale Gärwirkung hervorrufen soll. Wie wir bereits früher gezeigt haben, ist die Optimalkonzentration der Milchsäure $7 \cdot 10^{-4}$ [1]) bei 1 g Hefe und 25 ccm Lösung.

Betreffs des Einflusses der Temperatur sehen wir, daß die Steigerung der Wirkung der Wasserstoffionen von 20 bis 30° verhältnismäßig klein ist im Vergleich mit der Steigerung von 30 bis 40°. Zwischen 20 und 30° ist der Zuwachs pro Grad $\frac{K_{30} - K_{20}}{10} = 0{,}11$, zwischen 30 und 35° $\frac{K_{35} - K_{30}}{5} = 0{,}16$, zwischen 35 und 38° $\frac{K_{38} - K_{35}}{3} = 1{,}0$ und zwischen 38 und 40° $\frac{K_{40} - K_{38}}{2} = 1{,}05$.

Auf welchen Ursachen diese Steigerung beruht, läßt sich natürlich zurzeit nicht endgültig beantworten. Die Vermutung liegt jedoch sehr nahe, daß die Herabsetzung der Gärwirkung in Zusammenhang steht mit der Inaktivierung bzw. Zerstörung der Gärungsenzyme, welcher Prozeß unter Einfluß der Wasserstoffionen bei höherer Temperatur erheblich mehr beschleunigt wird als bei niedriger Temperatur.

Man könnte wohl auch denken, daß die Permeabilität der Hefezelle gegenüber Milchsäure bzw. Wasserstoffionen von gewissen Temperaturen an eine verhältnismäßig große Steigerung erfährt. Bekanntlich spielt nämlich bei Hemmungen bzw. Vergiftungen die Durchlässigkeit der Hefezellmembran eine wesentliche Rolle. Über die Permeabilität der Hefezelle ist uns leider sehr wenig bekannt. Zu erwähnen sei jedoch eine Arbeit von Paine[2]), der auf Grund von plasmolytischen Versuchen erweisen konnte, daß die Durchlässigkeit der Zellwand für verschiedene Stoffe sehr ungleich ist.

---

[1]) Hägglund, a. a. O.

[2]) Paine, Proc. Roy. Soc. 84, 289, 1912; vgl. ferner Lundberg, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 2, 223, 1913; Hägglund, a. a. O. S. 8, 39.

Zusammenfassung.

1. Es wurde die Gärungsgeschwindigkeit der Hefe R XII unter verschiedenen Zusätzen von Milchsäure und ohne Zusatz (mit Wasser) parallel und quantitativ gemessen. Das Verhältnis zwischen den Gärungsgeschwindigkeiten der Versuche mit und ohne Zusatz — relative Gärungsgeschwindigkeit — gibt graphisch zusammengestellt ein klares Bild von der fortschreitenden Herabsetzung der Gärkraft der Hefe.

2. Die Gärungshemmung bei Zusatz von Milchsäure ist nur auf den Gehalt der Gärungsflüssigkeit an Wasserstoffionen zurückzuführen, und zwar ist die Größe der Hemmung — berechnet als die relative Gärungsgeschwindigkeit nach 2 Stunden — der Konzentration der Wasserstoffionen des Gärsubstrates direkt proportional.

3. Der Einfluß der Temperatur auf die hemmende Wirkung der Wasserstoffionen wurde zwischen 20 und 40° untersucht. Von 35° an konnte eine erhebliche Zunahme der Hemmung bemerkt werden.

Untersuchung über die Fettstoffe in der Leber der Selachier (Amyliobatis aquila).

Von

Raffaele Paladino.

(Aus dem chemisch-physiologischen Laboratorium der Kgl. Universität und Zoologischen Station in Neapel.)

(Eingegangen am 19. Dezember 1914.)

Bekanntlich fehlt den Selachiern ein eigentliches Fettgewebe, und deshalb ist die Leber bei diesen Tieren das fettspeichernde Organ.

Bottazzi[1]) gibt als erster in seiner Untersuchung über den Fett- und Glykogengehalt der Selachierleber einige Daten über die Gewinnung und die Menge der Fettsäuren aus der Selachierleber (Torpedo ocellata, Squatina angelus, Scyllium stellare); dabei wird in erster Linie die Frage behandelt, ob in der Leber dieser Tiere nicht auch Glykogen vorkomme und seine Menge unter den verschiedenen physiologischen Bedingungen in Beziehung zu dem Fettgehalt stehe.

Da die Kenntnis von der Natur des Selachierfettes sehr unvollständig ist, bat ich die Zoologische Station in Neapel um Überlassung einiger guter Exemplare von Amyliobatis aquila. Die Erfüllung meiner Bitte setzte mich in den Stand, aus der sehr umfangreichen Leber dieser Tiere hinreichend Material für eine genauere Untersuchung über die Fettsubstanzen auszuführen.

Durch andauernde Extraktion der fein zerkleinerten Leber mit Äther gewann ich das Fett, das nach dem Abdestillieren des Äthers eine dickflüssige, ölige Masse mit durchdringendem

---

[1]) Fett und Glykogen in der Selachierleber. R. Acc. dei Lincei **16**, Serie 5, Heft 8, 1907.

Geruch von dem spez. Gew. 0,9245 (bestimmt im Sprengel-Ostwaldschen Pyknometer) darstellte.

Es schmolz vollständig bei 50° und erstarrte bei 20°, ermittelt nach der Bachschen Methode.

Die spektroskopische Untersuchung ergab das Vorhandensein von zwei Absorptionsstreifen, von denen der eine im Rot bei der Linie C und der andere im Gelb etwa bei der Linie D lag, offenbar herrührend vom vorhandenen Lipochrom.

Qualitative Reaktionen. Das Fett von Amyliobatis aquila gibt folgende Farbenreaktionen:

1. Heydenreichsche Reaktion. Schwefelsäure erzeugt zunächst eine rötliche Färbung, die dann, namentlich beim Schütteln, in kräftiges Braunrot übergeht.

2. Bachsche Reaktion. Salpetersäure bringt eine Gelbfärbung hervor, die beim Erwärmen auf dem Wasserbad gelborange wird.

3. Reaktion von Hauchecorne. Mit dem Hauchecorneschen Reagens (3 Teile reine HNO_3 40° B. und 1 Teil Wasser) erhält man nach Erwärmen auf dem Wasserbade eine kräftige Rotfärbung.

Quantitative Daten: Säurezahl, Verseifungszahl, Reichert-Meißlsche Zahl, Jodzahl.

A. Säurezahl.

Das Fett wurde mit Alkohol auf dem Wasserbade bis zum Aufkochen erwärmt. Titrierung erfolgte mit $^n/_{10}$-Kalilauge. Man erhielt folgende Ergebnisse:

I. 5,4526 g Fett erforderten 10,2 ccm KOH-Lösung. Säurezahl: 10,4.

II. 5,3808 g Fett erforderten 9,8 ccm KOH-Lösung. Säurezahl: 10,21.

B. Verseifungs- oder Köttstorfersche Zahl.

Das Fett wurde mit alkoholischer $^n/_2$-Kalilauge behandelt. Dann titrierte man den Überschuß an angewandter Kalilauge mit $^n/_2$-Salzsäure. Ergebnisse:

I. 2,1474 g Fett wurden mit 25 ccm alkoholischer Ätzkalilauge verseift. Zur Neutralisierung des Überschusses an

benutzter Kalilauge waren 8,9 ccm $^n/_2$-HCl-Lösung erforderlich. Verseifungszahl: 193,8.

II. 2,2778 g Fett wurden mit 25 ccm alkoholischer Ätzkalilauge verseift. 8,2 ccm $^n/_2$-HCl-Lösung waren zur Neutralisierung des Überschusses von angewandter Kalilauge nötig. Verseifungszahl: 194,0.

C. Reichert-Meißlsche Zahl.

Das Fett wurde mit Kalilauge verseift. Nach Verdampfung des Alkohols wurde der Rückstand im Wasser gesammelt, Schwefelsäure hinzugefügt und abdestilliert. Zum Schluß titrierte man mit $^n/_{10}$-Kalilauge. Ergebnisse:

I. Zur Sättigung der flüchtigen Fettsäuren von 5,3622 g waren 2,57 ccm $^n/_{10}$-KOH-Lösung erforderlich. Reichert-Meißlsche Zahl: 2,66.

II. Zur Sättigung der flüchtigen Fettsäuren von 5,211 g Fett waren 2,39 ccm $^n/_{10}$-Sodalösung erforderlich. Reichert-Meißlsche Zahl: 2,29.

D. Jodzahl.

Zu dieser Bestimmung benötigte man folgende Lösungen:

1. Jodlösung (25 g in 500 g Alkohol von 95^0).
2. Quecksilberchloridlösung (30 g in 500 g Alkohol).

(Die Mischung dieser beiden Lösungen bildet die sog. Jodmischung. Vor Ausführung der Jodzahlbestimmung des Fettes wurde der Jodgehalt in 25 ccm der Mischung mit Natriumthiosulfat titrimetrisch ermittelt.)

3. $^n/_{10}$ unterschwefligsaure Natriumlösung.
4. Jodkaliumlösung.
5. Stärkelösung.

Dem Fette fügt man Chloroform und 25 ccm der Jodmischung hinzu.

Die Flüssigkeit wurde, nachdem sie lange gestanden hatte, mit der Jodkaliumlösung und mit Wasser behandelt und nach und nach mit dem Natriumhyposulfit versetzt, bis das Chloroform und das Wasser schwach gefärbt erschienen. Darauf fügte man die Stärkelösung hinzu, um genau den Farbenumschlag zu ermitteln.

Bei Benutzung von 25 ccm der Jodmischung gibt der Unterschied zwischen dem ersten und zweiten Titer die vom

Fett absorbierte Jodmenge an, aus der man die Jodzahl berechnet.

Gefunden:

I. 0,6276 g Fett ergaben die Jodzahl 104,8.
II. 9,5712 g „ „ „ „ 105,1.

Trennung der Fettsäuren.

Verseifung: 200 g Fett wurden in 200 ccm 90%igem Alkohol gelöst, 60 ccm Ätzkali mit 40 ccm Wasser erhitzt und mit 200 ccm Alkohol von 90° versetzt. Die beiden Lösungen wurden getrennt bis zum Aufkochen erhitzt, dann unter kräftigem Schütteln schnell vereinigt, so daß fast augenblicklich vollständige Verseifung eintrat. Der gelblich-roten Seifenlösung wurde nach langem Stehen ein kleiner Überschuß von Salzsäure zugefügt. Nach dem Aufkochen und Erkalten wurde abfiltriert. Die gewonnene Flüssigkeit reagierte sauer, war klar und von gelblicher Färbung. Der auf dem Filter verbliebene Teil war eine weiche braun-gelbe Masse. Sie wurde wiederholt mit Wasser ausgewaschen, dann mit Äther in der Hitze behandelt, wobei sie sich vollständig auflöste. Die ätherische Lösung war klar, von saurer Reaktion und gelblich-roter Färbung.

Die abfiltrierte saure Flüssigkeit wurde, nachdem die Natronseife mit Salzsäure ausgefällt war, in zwei gleiche Teile geteilt, um in dem einen das Glycerin, im anderen die Phosphorsäure zu bestimmen. Nach Neutralisierung des ersten Anteils mit Ammoniak und Einengung auf ein kleines Volumen auf dem Wasserbade wurde die Lösung zwecks Glyceringewinnung mit Alkohol behandelt. Nach Verdampfen des Alkohols wurde im Rückstand Glycerin durch den charakteristischen Acroleingeruch festgestellt und noch weiter mittels der üblichen Reagenzien (Kaliumbisulfat usw.) nachgewiesen. Der andere Teil der Ausgangsflüssigkeit wurde bis zur Trockne eingedampft, mit rauchender Salpetersäure in der Hitze versetzt, um die organischen Substanzen zu zerstören. Dann verdampfte man abermals bis zur Trockne, fügte zum Rückstand mit Salpetersäure angesäuertes Wasser hinzu und filtrierte. Dem Filtrat gab man überschüssige Mengen von salpetersaurer Lösung von Ammoniummolybdat hinzu, die, besonders beim Erwärmen, ein reichliches gelbes Präcipitat bewirkten.

Das gesammelte Ammoniumphosphormolybdat wurde vor der üblichen Behandlung im Ammoniak aufgelöst, hierauf mit der ammoniakalischen Magnesiamischung behandelt, wobei man die charakteristische weiße, krystallinische Fällung von Ammonmagnesiumphosphat erhielt, was auch auf die Anwesenheit von bedeutenden Phosphormengen hinwies. Außer kleinen Eisenmengen, die sicherlich vom Lipochrom herrührten, wurden noch mit Hilfe der üblichen Reagenzien Ammonrhodanit und gelbes Blutlaugensalz nachgewiesen.

Die feste Masse, die, wie oben ausgeführt, vollkommen von Äther befreit war, ergab eine gelblich-rote Flüssigkeit von stark saurer Reaktion. Der rückständige Teil ging nach der Destillation und gänzlichen Verdampfung des Äthers allmählich wieder in eine halbfeste Masse von weißlich-gelber Färbung über, die wiederholt in einer möglichst geringen Menge Äther aufgelöst wurde. Die die Fettsäuren enthaltende ätherische Lösung wurde mit Ätzkalilauge (20 $^0/_0$) behandelt, um die Fettsäuren zur Verseifung zu bringen. In der Mischung bildete sich nach und nach eine wässerige und eine ätherische Schicht, die streng voneinander abgegrenzt waren. Durch die wässerige Lösung der Seife wurde dann ein Kohlensäurestrom geleitet, um den Überschuß an Alkali zu neutralisieren, dann wurde sie zur vollständigen Trockenheit gebracht. Die so erhaltene, fein pulverisierte und getrocknete Natronseife wurde in kochendem Alkohol gelöst und noch heiß mit konzentrierter Bleiacetatlösung gefällt. Es fiel ein reichlicher Niederschlag gelblicher Bleiseife aus, der gewaschen und getrocknet wurde. Zur Gewinnung der Ölsäure wurde er lange mit Äther extrahiert, der nur das ölsaure Blei löste. Nach Filtration erhielt man die ätherische, gelbe Bleioleatlösung und auf dem Filter einen fast weißen Anteil, der wiederholt mit Äther ausgewaschen wurde. Hierauf untersuchte ich gesondert den flüssigen und den festen Teil.

Die ätherische Flüssigkeit wurde nun mit verdünnter Salzsäure behandelt, um die Bleiseife zu zerlegen und auf diese Weise die Ölsäure in Freiheit zu setzen, die im Äther gelöst blieb, während Bleichlorid ausfiel. Nachdem die Trennung in der Hahnbürette vorgenommen war, wurde die ätherische Lösung gesammelt, abdestilliert und schließlich zwecks vollständiger

Entfernung des Lösungsmittels verdampft. Es resultierte eine ölige, gelbe, sauer reagierende Flüssigkeit, die es nicht gelang durch Abkühlung zur Erstarrung zu bringen. Dies war die Ölsäure, auf die wir gefahndet hatten, und die noch weiterer Behandlung zur genaueren Ermittelung unterworfen wurde. Die Reaktion mit Schwefelsäure und Zucker ergab ganz eindeutig die charakteristische kirschrote Färbung.

Der feste, im Äther unlösliche Teil wurde dagegen zuerst mit verdünnter Schwefelsäure behandelt, um die an Blei gebundenen anderen Fettsäuren in Freiheit zu setzen, und längere Zeit gekocht. Nach Zersetzung der Bleiseife wurde die Mischung abgekühlt, filtriert; den Rückstand sammelte man auf dem Filter, löste ihn vor vollständiger Trocknung in Äther, filtrierte, um das Bleisulfat von der ätherischen Lösung der Fettsäuren zu trennen. Nach Abdestillieren des Äthers erhielt man als Rückstand eine gelbe Flüssigkeit, die beim Erkalten zu einer weißen Masse erstarrte. Die Bestimmung des Schmelzpunktes war erst nach erfolgter Reinigung möglich. Erstere wurde durch wiederholtes Auskrystallisieren des kochenden Alkohols vollzogen, bis sich eine weiße krystallinische Masse ergab, die bei 62° schmolz und nichts anderes als Palmitinsäure sein konnte. Es fehlte also jetzt nur noch die Prüfung auf die Gegenwart von Stearinsäure.

Der andere Anteil der fast weißen festen Masse der Fettsäuren wurde in Äther gelöst und die ätherische Lösung mit Sodalösung verseift. Danach wurde durch die wässerige Lösung der Kohlensäurestrom geleitet, um den Überschuß an Soda zu neutralisieren, und bis zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde zu Pulver zerrieben, in kochendem Alkohol gelöst, die alkoholische Lösung mit gesättigter Bariumchloridlösung behandelt, filtriert und der Niederschlag gesammelt. Dieser wurde mit kochendem Alkohol ausgewaschen, in etwas verdünnter Salzsäure gelöst und mit Äther versetzt. Die vom übrigen getrennte ätherische Lösung wurde auf dem Wasserbade verdampft, der Rückstand in kochendem Alkohol gelöst, aus dem sich beim Erkalten eine weiße Masse abschied, die ihrerseits gelöst und aus dem Alkohol auskrystallisiert wurde. Ihr Schmelzpunkt lag bei 69 bis 70°; sie bestand folglich aus Stearinsäure.

Auf diese Weise wurde in dem zu untersuchenden Fett das Vorhandensein von drei Fettsäuren nachgewiesen: Ölsäure, Palmitinsäure und Stearinsäure.

Faßt man die Ergebnisse der ausgeführten Untersuchungen zusammen, so läßt sich folgendes sagen:

Das in der Leber von Amyliobatis aquila enthaltene Fett ist eine ölige Flüssigkeit mit charakteristischem, penetrantem Geruch, spez. Gew. 0,9235, Schmelzpunkt bei 50°, Erstarrungspunkt bei 20°. Die spektroskopische Untersuchung läßt zwei Absorptionsstreifen zwischen C und D erkennen. Die Substanz ergibt mit verschiedenen Reagenzien charakteristische Farbenreaktionen; Säurezahl 10,2, Verseifungszahl 193,8, Reichert-Meißlsche Zahl 2,66 und Jodzahl 104,8.

Der feste und lösliche Teil der Fettsubstanz besteht aus Ölsäure, Palmitinsäure und Stearinsäure; er enthält daneben Phosphor und Eisen.

Über die Beziehungen der Milchsäure zum Kohlenhydratstoffwechsel.

III.

Über die Milchsäurebildung beim menschlichen Diabetes.

Von

Otto von Fürth.

(Eingegangen am 14. Januar 1915.)

Mit 2 Figuren im Text.

1. Einleitung.

Durch eine Reihe früher mitgeteilter Versuche, die das Auftreten der Milchsäure im Kaninchenharne bei der Phosphorvergiftung sowie bei der künstlichen Abkühlung zum Gegenstand haben[1]), dürfte die Abhängigkeit der Milchsäureausscheidung im Harne vom Kohlenhydratbestande des Organismus in eindeutiger Weise festgestellt sein. Es konnte nämlich gezeigt werden, daß Kaninchen im Zustande der Zuckerüberschwemmung auf einen (unter bestimmten Modalitäten zur Anwendung gebrachten) Abkühlungsreiz mit reichlicher Milchsäureausscheidung reagierten. Dagegen gelang es in keiner Weise, im Zustande der Kohlenhydratverarmung durch Abkühlung auch nur die Andeutung einer Milchsäureausschüttung zu erzielen.

Auf Grund der Erkenntnis enger Beziehungen der Milchsäure zum Kohlenhydratstoffwechsel, wie sie sich aus diesen und aus vielen Versuchen anderer Autoren[2]) ergibt, mußte sich

[1]) O. v. Fürth, Über die Beziehungen der Milchsäure zum Kohlenhydratstoffwechsel. I. Über das Auftreten der Milchsäure im Kaninchenharn bei der Phosphorvergiftung. II. Über die Milchsäureausscheidung im Harn abgekühlter Kaninchen. Diese Zeitschr. **64**, 131 bis 155, 156 bis 171, 1914.

[2]) Vgl. die Literatur bei C. Neuberg, Der Zuckerumsatz der Zelle. Handb. d. Biochem., Ergänzungsbd. **1913**, 569 bis 609, und Monographie. Jena **1913**. Verlag von Gustav Fischer.

die Frage aufdrängen, wie sich denn die Milchsäurebildung im diabetischen Organismus verhält.

Man könnte erwarten, daß, geradeso wie der künstlich mit Zucker überschwemmte Organismus unter Umständen reichlich Milchsäure bildet, dies auch im diabetischen Organismus der Fall sein dürfte.

Gegen eine derartige Auffassung scheinen aber vor allem die ausgezeichneten Beobachtungen von A. R. Mandel und Graham Lusk[1]) zu sprechen. Die genannten Forscher sahen die Milchsäure aus dem Blute und dem Harne phosphorvergifteter Tiere verschwinden, sobald sie einen Phlorizindiabetes eingeleitet hatten. Man könnte dies nun so deuten, daß der Zucker, der bei der einfachen Phosphorvergiftung in Milchsäure übergehen würde, infolge der Wirkung des Phlorizins aus dem Organismus verschwindet und so der weiteren Umwandlung in Milchsäure entzogen wird. Nun haben aber Mandel und Graham Lusk anderweitig beobachtet, daß Phlorizintiere, denen man künstlich Milchsäure zuführt, dieselbe in großem Umfange in Zucker umzuwandeln vermögen. Man könnte also ebensogut annehmen, daß die bei der einfachen Phosphorvergiftung auftretende Milchsäure deswegen aus dem Harne verschwindet, sobald man einen Phlorizindiabetes eingeleitet hat, weil die Milchsäure in Zucker umgewandelt wird.

Es erscheint also die Möglichkeit gegeben, daß der diabetische Organismus Zucker in Milchsäure oder aber, umgekehrt, Milchsäure in Zucker umwandelt. Welcher Vorgang ist nun in Wirklichkeit im diabetischen Organismus der vorherrschende?

Ich habe speziell der postmortalen Milchsäurebildung in den Organen diabetischer Individuen meine Aufmerksamkeit zugewandt.

Die Gesamtheit der in bezug auf die postmortale Bildung der Organmilchsäure bisher vorliegenden Erfahrungen deutet darauf hin, daß dieselbe keineswegs etwa unmittelbar auf Kosten von Kohlenhydraten erfolgt, vielmehr auf Kosten einer unbekannten Vorstufe, des „Lactacidogens“ nach Embden,

[1]) A. R. Mandel and Graham Lusk, Lactic acid and intermediary metabolism. (Bellevue Hospital Medic. College.) Americ. Journ. of Physiol. 16, 129 bis 146, 1906.

das allerdings allem Anscheine nach seinerseits durch einen Spaltungs- oder Umwandlungsvorgang aus dem Zucker hervorzugehen scheint.

Es dürfte an dieser Stelle genügen, auf eine jüngst erschienene Arbeit von J. Parnas und R. Wagner hinzuweisen, welche die Beziehungen zwischen Kohlenhydratschwund und Milchsäurebildung im Muskel betrifft und die Gesamtheit der vorliegenden Literatur kritisch erörtert. Die Genannten gelangen zu der Schlußfolgerung (S. 418), „daß in den Muskeln eine Substanz enthalten ist, die, obgleich kein Kohlenhydrat, weder ein einfaches noch ein Polysaccharid, unter der Einwirkung von Reizen, mechanischer Verletzung und Giften in Milchsäure umgewandelt wird". Ferner wird durch diese Versuche die Annahme nahegelegt, „daß diese Vorstufe der Milchsäure aus den Kohlenhydraten des Muskels entsteht; denn der Kohlenhydratschwund geht in den meisten Fällen der Milchsäurebildung parallel und folgt ihr, im Falle er zeitlich hinter ihr zurückbleibt, doch nach"[1]).

Was wissen wir nun tatsächlich über die postmortale Milchsäurebildung in diabetischen Organen?

Einige ältere Beobachtungen Minkowskis[2]), dem es nicht gelungen war, in der Muskulatur pankreasdiabetischer Hunde Milchsäure nachzuweisen, erscheinen, angesichts der Mängel der damals üblichen Methodik, nicht verwertbar.

Verzár und Fejér[3]) haben auf Grund von Untersuchungen des respiratorischen Stoffwechsels auf die Möglichkeit hingewiesen, daß beim pankreasdiabetischen Individuum der Zuckerabbau vielleicht bei der Milchsäurestufe stecken bleibe. Dies hat Forschbach[4]) auf der Klinik Minkowskis veranlaßt,

---

[1]) J. Parnas und R. Wagner, Über den Kohlenhydratumsatz isolierter Amphibienmuskeln und über die Beziehungeu zwischen Kohlenhydratschwund und Milchsäurebildung im Muskel. Physiol.-chem. Inst. Straßburg. Diese Zeitschr. **61**, 387, 1914.

[2]) Minkowski, Untersuchungen über den Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **31**, 185, 1893.

[3]) F. Verzár und A. v. Fejér, Die Verbrennung von Traubenzucker im Pankreasdiabetes. Diese Zeitschr. **53**, 156, 1913.

[4]) J. Forschbach, Zur Frage der Muskelmilchsäure beim Diabetes mellitus usw. Diese Zeitschr. **58**, 338, 1913.

nachzuprüfen, ob eine Milchsäureanreicherung in diabetischen Muskeln nachweisbar sei. Denn wenn das Wesen des Diabetes wirklich darin beruht, daß der Zuckerabbau nur bis zu der Milchsäure verläuft, müßte sich ja die Milchsäure in diabetischen Organen anhäufen. Nun hat Forschbach die Muskulatur zweier pankreasdiabetischer Hunde in bezug auf ihren Milchsäuregehalt geprüft. Der eine Hund wurde 8 Tage nach der Operation untersucht und gab normale Werte. Der andere Hund wurde 20 Tage nach der Operation getötet und zeigte eine Herabminderung des Milchsäuregehalts seiner Muskulatur.

Schließlich hat Woodyatt[1]) im Laboratorium von Gideon Wells die postmortale Milchsäurebildung in den Muskeln normaler und phlorizinierter Hunde verglichen und bei letzteren vermindert gefunden. Nun ist ja freilich der Phlorizindiabetes vom eigentlichen Pankreasdiabetes (zu dem auch der menschliche Diabetes gezählt werden muß) seinem Wesen nach grundverschieden. Interessant aber ist es, daß dieser Autor auch in einem (allerdings vereinzelten) Falle von menschlichem Diabetes einen sehr niedrigen Milchsäurewert in der Muskulatur ermittelt hatte.

Eine systematische Untersuchung des Milchsäurebildungsvermögens diabetischer menschlicher Organe scheint, soweit mir bekannt ist, bisher niemals ausgeführt worden zu sein. Ich habe mich daher entschlossen, diese wichtige Lücke unseres Wissens auszufüllen. Das große Sektionsmaterial des Wiener allgemeinen Krankenhauses, aus dem mir, dank dem gütigen Entgegenkommen des Vorstandes des Wiener pathologisch-anatomischen Universitätsinstituts, des Herrn Hofrats Prof. Dr. Weichselbaum, im Laufe einiger Monate eine größere Zahl von Fällen von echtem schweren, letal verlaufendem Diabetes zugänglich geworden ist, hat mich in die Lage versetzt, an diese Aufgabe heranzutreten.

Da bisher auch keine brauchbaren Angaben über das Ausmaß des Milchsäurebildungsvermögens normaler menschlicher Muskulatur vorlagen, habe ich auch solche untersucht, und zwar wählte ich als Material die Organe kräftiger

[1]) Woodyatt, Studies on the theory of diabetes. I. Sarcolactic acid in diabetic muscles. Journ. of Biol. Chem. 14, 441, 1913.

männlicher Individuen, die durch einen Unfall umgekommen und zur gerichtlich-medizinischen Sektion gelangt waren. Es ist mir dies durch die Liebenswürdigkeit des Direktors des Wiener gerichtlich-medizinischen Instituts, des Herrn Hofrats Alexander Kolisko, ermöglicht worden.

Schließlich untersuchte ich auch Muskelproben einiger in schwer kachektischem Zustand verstorbener Individuen, um festzustellen, ob und inwieweit ein solcher, unabhängig von der diabetischen Stoffwechselstörung, das Milchsäurebildungsvermögen zu beeinflussen vermag.

Ich möchte es nicht unterlassen, sowohl Herrn Hofrat Weichselbaum als auch Herrn Hofrat Kolisko für die Unterstützung meiner Arbeit auch an dieser Stelle herzlich zu danken.

2. Methodik der Versuche.

Die exakte Ermittelung des Milchsäurebildungsvermögens menschlicher Organe setzt die Einhaltung gewisser Kautelen voraus.

Es muß zunächst dem Umstande Rechnung getragen werden, daß diese Art von Material ja nicht in lebensfrischem Zustande erhältlich ist, daß vielmehr stets ein gewisser Zeitraum, der sich je nach Umständen nach Stunden oder Tagen bemißt, verstreichen wird, ehe man das Material aus dem Seziersaale erhält. Nun hat sich aber aus einer Reihe von Untersuchungen, die insbesondere in Salkowskis Laboratorium, ferner im medizinisch-chemischen Institut zu Tokio ausgeführt worden sind, die Tatsache ergeben, daß in den Organen post mortem neben einer Milchsäurebildung auch eine Milchsäurezerstörung einhergeht.

Ich sagte mir daher, daß wenn ich in wirklich exakter Weise Aufschluß über das Milchsäurebildungsvermögen eines Organs erhalten wollte, es nicht etwa genügt, in einer willkürlich entnommenen Probe desselben die Milchsäure zu bestimmen. Denn es ist ja dann gar keine Garantie dafür geboten, daß diese Probe das Maximum der Milchsäurebildung schon erreicht oder aber noch nicht überschritten hat. Um in dieser Hinsicht sicher zu gehen, verfuhr ich nun derart, daß ich z. B. von der Schenkelmuskulatur eines diabetischen Menschen bei der Sektion 1 kg entnahm. Die ganze (von Fett,

Sehnen u. dgl. nach Möglichkeit frei präparierte) Muskelmasse wurde nun fein zerhackt, gut durchgemischt und nun in sorgfältig abgewogenen Portionen zu je 100 g auf 10 eingeschliffene Glasbüchsen verteilt. Jede Büchse enthielt außerdem 200 ccm physiologischer Kochsalzlösung, 25 ccm Toluol und 25 ccm Chloroform; der Inhalt wurde gut umgeschüttelt, der eingeschliffene Glasstöpsel mit einem Paraffinüberzuge versehen (um jedes Verspritzen des Inhaltes beim Umschütteln zu vermeiden). Die ganze Serie wurde in den Brutschrank gestellt, täglich umgeschüttelt und von Zeit zu Zeit (z. B. nach 1, 2, 5, 10, 15 Tagen) eine Probe entnommen und darin die Milchsäure bestimmt.

Wie aus den später mitzuteilenden Versuchsprotokollen ersichtlich ist, liegen die Dinge nun in praxi einfacher und günstiger, als ich es von vornherein erwartet hatte, insofern die autolytische Milchsäurezerstörung zum mindesten im menschlichen Muskel bei den von uns geübten Versuchsbedingungen kaum angedeutet ist und die Milchsäurekurven nach einem rapiden Anstiege durchwegs annähernd parallel zur Abszisse verlaufen. Wenn man sich also in Zukunft über das Milchsäurebildungsvermögen der Muskulatur eines Menschen wird orientieren wollen, so wird es genügen, wenn man etwa zwei Proben derselben zu je 100 g mit der doppelten Menge physiologischer Kochsalzlösung und reichlich Chloroform und Toluol in einem gut verschlossenen Gefäße etwa für drei Tage in den Brutofen stellt. Dann wird die Probe auskoaguliert und die Milchsäure nach bekanntem Verfahren als Aldehyd ermittelt. Zur Kontrolle kann man dann nach einigen Tagen die andere Probe auskoagulieren und sich vergewissern, daß die Milchsäuremenge im Brutofen nicht weiter zugenommen hat.

Es ist unerläßlich, die Milchsäure in Organextrakten nach dem Aldehyddestillationsverfahren, nicht aber durch einfache Titration zu ermitteln. Ssobolew[1]), der auf meine Veranlassung hin die Milchsäurebildung bei der antiseptischen Organautolyse studiert hat, hat mit vielen älteren Untersuchern die Meinung geteilt, daß die im Kochextrakte eines Organes vorhandene Milchsäure unter Anwendung von Phenolphthalein

[1]) N. Ssobolew, Über die Milchsäurebildung bei der antiseptischen Organautolyse (unter Leitung von O. v. Fürth, Wien). Diese Zeitschr. 47, 367, 1912.

mit ausreichender Sicherheit bestimmt werden könne, da bei der postmortalen Säuerung neben der Milchsäure andere Produkte von saurer Natur angeblich praktisch nicht in Betracht kommen sollten. Es ist dies ein Irrtum, der dringend einer Berichtigung bedarf. Für frische normale Muskulatur des Menschen und der Säugetiere scheint obige Ausnahme wirklich einigermaßen zuzutreffen. Für pathologische Fälle und andere Organe erscheint jedoch ein Rückschluß aus der Aciditätszunahme auf eine Zunahme der Milchsäure gänzlich unstatthaft. Beifolgendes Beispiel mag ersichtlich machen, wie große Mengen einer sauren, von der Milchsäure verschiedenen Substanz etwa in der Leber bei der Autolyse auftreten können.

Versuch 1.

J. M., Kranführer, 21 Jahre alt. Tod durch Fabriksunfall (Quetschung der rechten Thoraxhälfte). Die erste Organprobe (A) sofort nach der Sektion, ca. 34 Stunden p. m. entnommen. Portion B nach drei Tagen, Portion C nach neun Tagen im Brutofen (in physiologischer NaCl mit Toluol und Chloroform s. o.). Es fanden sich in 100 g des Organs Gramm Milchsäure (wobei die titrimetrische Acidität der Kochextrakte auf Milchsäure umgerechnet wurde):

	A 1 Tag p. m.		B 3 Tage p. m.		C 9 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskulatur . . .	0,374	0,365	0,418	0,423	0,487	0,480
Leber	0,206	0,367	0,265	0,801	0,286	1,143

Versuch 2.

Elisabeth B., 50 J. alt. Coma diabeticum.

	A 12 St. p. m.		B 4 Tage p. m.	
	Aldehydverf.	Titrat.	Aldehydverf.	Titrat.
Muskulatur	0,266	0,300	0,263	0,381
Leber	0,251	0,293	0,241	0,648

Zahlreiche weitere Belege finden sich in den weiter unten angeführten Versuchsprotokollen.

Die Natur der sauren Substanz, die neben der Milchsäure in so reichlichem Maße bei der antiseptischen Leberautolyse auftritt, gedenke ich zum Gegenstande einer besonderen Unter-

suchung zu machen. Bei einer solchen dürfte es sich auch herausstellen, inwieweit ein Zusammenhang zwischen Milchsäurebildung und Phosphorsäureabspaltung zur Erklärung der beschriebenen Erscheinungen herangezogen werden könnte[1]).

Es versteht sich von selbst, daß bei den hier vorliegenden Versuchen, bei denen die Milchsäuremenge im Kochextrakte einer zerkleinerten Muskelprobe ermittelt wurde, auch jene Milchsäure mitbestimmt worden ist, die aus dem vorhandenen Lactacidogenvorrate erst bei der Prozedur des Zerkleinerns und Auskochens neu entstanden war. Ich habe mich eben damit begnügt, festzustellen, wieviel Milchsäure aus der betreffenden Muskelprobe in den Kochextrakt übergeht, ohne auf die Frage einzugehen, ein wie großer Anteil davon schon als fertige Milchsäure und ein wie großer Anteil dagegen als Lactacidogen in einer solchen Form vorhanden war, daß er sich bei den vorgenommenen Manipulationen in Milchsäure umwandelte.

Nach den von Mondschein[2]) in diesem Laboratorium ausgeführten Untersuchungen wird ein Bruchteil der in einem Gewebe enthaltenen ~~Milchsäure dur~~ch Eiweißbindung im Koagulum zurückgehalten, ohne in den Kochextrakt überzugehen. Dieser im Eiweißkoagulum enthaltene Milchsäureanteil kann der Bestimmung derart zugeführt werden, daß das erstere durch Lauge verflüssigt und die albuminathaltige Lösung durch Zusatz gesättigter Kochsalzlösung enteiweißt wird. Ich habe auf diesen Milchsäureanteil bei den vorliegenden Untersuchungen keine Rücksicht genommen, da die (gleichfalls in diesem Laboratorium ausgeführten) Untersuchungen von Ssobolew[3]) gelehrt haben, daß der vom Organeiweiß gebundene Milchsäureanteil ein so konstanter ist (0,10 bis 0,15 g pro 100 g Organ), daß er, wenn es sich um Vergleichsversuche zu physiologischen oder pathologischen Zwecken handelt, sehr wohl vernachlässigt werden kann.

Dagegen habe ich bei den vorliegenden Untersuchungen auf eine andere, gleichfalls von Mondschein[4]) studierte Fehlerquelle der Milchsäurebestimmung zuweilen Rücksicht genommen: nämlich auf das Vorkommen von β-Oxybuttersäure in den Geweben, die sich namentlich beim

---

[1]) Vgl. J. Parnas und R. Wagner, l. c. S. 411 bis 416 und 426.

[2]) J. Mondschein, Über die quantitative Bestimmung von Milchsäure bei Gegenwart von Eiweißkörpern (unter Leitung von O. v. Fürth, Wien). Diese Zeitschr. **42**, 105, 1912.

[3]) N. Ssobolew, l. c.

[4]) J. Mondschein, Quantitative Bestimmung der Milchsäure neben β-Oxybuttersäure (unter Leitung von O. v. Fürth, Wien). Diese Zeitschr. **42**, 91, 1912.

Coma diabeticum darin in nicht unerheblichen Mengen anhäufen kann[1]). Bei der Milchsäurebestimmung nach dem Aldehydverfahren wird nach Mondschein eine Korrektur in der Weise eingeführt, daß in einem aliquoten Teile des Destillats der leicht angreifbare Acetaldehyd durch andauerndes Kochen mit Wasserstoffsuperoxyd und Lauge zerstört wird, worauf das (der Oxybuttersäure entstammende) Aceton neuerlich überdestilliert und nach Ripper titriert wird. Ich habe mich übrigens bald davon überzeugt, daß die so eingeführte Korrektur in praxi bei der Milchsäurebestimmung in den menschlichen Geweben so gering ist, daß sie ohne wesentlichen Nachteil vernachlässigt werden kann.

Das von mir eingeschlagene Verfahren hat sich im wesentlichen folgendermaßen gestaltet:

Die frische oder mehr oder minder lang im Brutofen autolysierte Organbreiprobe (100 g Organbrei in 200 ccm physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von Toluol und Chloroform) wurde in eine Emailschale überspült, am Wasserbade von Toluol und Chloroform befreit, über freier Flamme 10 Minuten lang in lebhaftem Sieden erhalten, die Flüssigkeit durch ein Filter abgegossen, eine neue Portion Wasser hinzugefügt, wieder gekocht, durch dasselbe Filter gezogen und der Vorgang im ganzen viermal wiederholt; die vereinigten Kochextrakte wurden in einem Meßkolben auf 1 l aufgefüllt.

Die gut durchgemischte Flüssigkeit wurde geteilt und die eine Hälfte unter Zusatz von Phenolphthalein mit $^{n}/_{10}$-Lauge titriert.

Die andere Hälfte diente zur exakten Milchsäurebestimmung.

Zu diesem Zwecke wurde dieselbe mit 30 ccm einer $20^{0}/_{0}$-igen Phosphorwolframsäurelösung (Kahlbaumsches Präparat) versetzt, der sich klar absetzende Niederschlag abfiltriert und nachgewaschen. (Man erhält so ein Filtrat, das eventuell noch direkt, nicht aber nach mehrfacher Verdünnung mit Wasser durch weiteren Phosphorwolframsäurezusatz fällbar ist.) Die Flüssigkeit wird nunmehr mit 70 ccm gesättigten Barytwassers gefällt und weiter filtriert. Das Filtrat erweist sich nunmehr meist so beschaffen, daß darin weder Kohlensäure einen Barytüberschuß anzeigt, noch aber weiterer Barytzusatz

[1]) Vgl. R. Sassa, Über den Oxybuttersäuregehalt der Organe normaler und diabetischer Individuen (unter Leitung von O. v. Fürth, Wien). Diese Zeitschr. 59, 362, 1914.

einen Niederschlag gibt. Ein etwa vorhandener Barytüberschuß wird mit Kohlensäure beseitigt. Die Flüssigkeit wird nunmehr

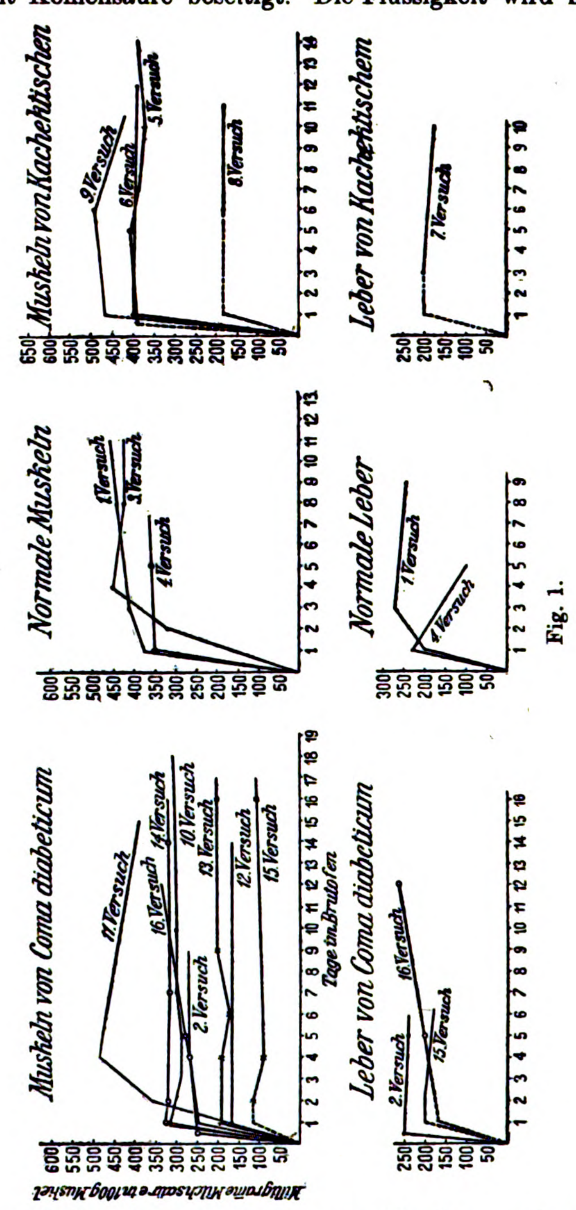


Fig. 1.

am Wasserbade ganz oder nahezu zur Trockene gebracht, der Rückstand unter Zusatz von 50 ccm 30 $^{0}/_{0}$ iger Phosphorsäure

in den Lindtschen Extraktionsapparat übertragen und die Bestimmung nun genau so weitergeführt, wie dies seinerzeit für die Milchsäurebestimmung im Harne von meinem Schüler H. Ishihara[1]) angegeben worden ist. Den letzten Akt bildet die Milchsäurebestimmung nach dem von mir gemeinsam mit Charnaß ausgearbeiteten Vorgange[2]).

3. Versuchsprotokolle.

Vgl. Tafel 1.

A. Normale Gewebe.

Versuch 3.

Franz Z., 19 J. alt. Selbstmord durch Schuß in die Brust.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 2 Tage p. m.		B 4 Tage p. m.		C 9 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskulatur	0,318	0,347	0,446	0,540	0,423	0,490

Gramm Milchsäure in 100 g	D 12 Tage p. m.		E 19 Tage p. m.	
	Aldehydverf.	Titrat.	Aldehydverf.	Titrat.
Muskulatur	0,424	0,478	0,427	0,424

Versuch 4.

Franz P., 48 J. alt, Arbeiter. Schädelbruch infolge Herabfallens eines Balkens.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 1 Tag p. m.		B 5 Tage p. m.	
	Aldehydverf.	Titrat.	Aldehydverf.	Titrat.
Muskulatur	0,353	?	0,360	0,441
Leber	0,228	0,360	0,099	0,812

[1]) H. Ishihara, Über die quantitative Bestimmung der Milchsäure im Harne (unter Leitung von O. v. Fürth, Wien). Diese Zeitschr. 50, 468, 1913.

[2]) O. v. Fürth und D. Charnaß, Über die quantitative Bestimmung der Milchsäure durch Ermittelung der daraus abspaltbaren Aldehydmenge. Diese Zeitschr. 26, 199, 1910.

B. Gewebe kachektischer Individuen.

Versuch 5.

Leopoldine K., 56 J. alt. Anaemia gravis.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 1 Tag p. m.		B 7 Tage p. m.	
	Aldehydverf.	Titrat.	Aldehydverf.	Titrat.
Muskulatur	0,405	0,367	0,387	0,489

Versuch 6.

Franz H., 41 J. Tuberculosis pulmon.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 5 Tage p. m.		B 10 Tage p. m.		C 19 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskulatur	0,402	0,421	0,369	0,433	0,389	0,435

Versuch 7.

R. S., 38 J. alt. Tuberculosis pulmon.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 3 Tage p. m.		B 10 Tage p. m.	
	Aldehydverf.	Titrat.	Aldehydverf.	Titrat.
Leber	0,206	0,421	0,181	0,653

Versuch 8.

Saul K., 50 J. alt, Tagelöhner. Myelitis transversa mit hochgradiger Muskelatrophie.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 7 Tage p. m.		B 15 Tage p. m.		C 20 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskeln	0,181	0,216	0,176	0,270	0,175	0,279

Versuch 9.

Franz M., 40 J. alt. Tuberculosis pulmonum.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 1 Tag p. m.		B 7 Tage p. m.		C 12 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskeln	0,472	0,648	0,494	0,637	0,414	0,556

C. Gewebe diabetischer Individuen.

Versuch 10.

Johanna R., 35 J. alt. Coma diabeticum.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 1 Tag p. m.		B 3 Tage p. m.		C 5 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskeln	0,312	0,258	0,292	0,336	0,294	0,338

Gramm Milchsäure in 100 g	D 7 Tage p. m.		E 10 Tage p. m.		F 15 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskeln	0,300	0,386	0,304	0,436	0,319	0,454

Versuch 11.

Bruska F., 59 J. alt. Coma diabeticum. Sektionsergebnis: Atrophie des Pankreas (Pankreasgewicht 170 g). Acetonämie. Phlegmone einer Extremität bei Sarcoma idiopath. hämorrhag. Multiple lobuläre Herde in beiden Lungen. Fettige Degeneration der Niere. Arteriosklerose.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 2 Tage p. m.		B 4 Tage p. m.		C 6 Tage p. m.		D 17 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskeln	?	0,280	0,388[1]	0,389	0,490	0,488	0,393	0,444

Versuch 12.

Leopoldine F., 18 J. alt. Coma diabeticum.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 1 Tag p. m.		B 7 Tage p. m.		C 18 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskeln	0,173	0,298	0,168	0,482	0,168	0,472

Versuch 13.

Johann M., 63 J. alt. Coma diabeticum.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 1 Tag p. m.		B 4 Tage p. m.		C 10 Tage p. m.		D 17 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskeln	0,192	0,246	0,190	0,324	0,205	0,437	0,199	0,450

[1]) Nach Korrektur für den Oxybuttersäuregehalt des Gewebes 0,364.

Versuch 14.

Leo K., 76 J. alt. Coma diabeticum. Amputation des rechten Unterschenkels wegen Gangrän.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 1 Tag p. m.		B 3 Tage p. m.		C 8 Tage p. m.		D 15 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskeln	0,324	0,266	0,316	0,322	0,309	0,353	0,323	0,430

Versuch 15.

Josepha T., 58 J. alt. Coma diabeticum.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 2 Tage p. m.		B 4 Tage p. m.		C 16 Tage p. m.	
	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.	Aldehyd-verf.	Titrat.
Muskeln	0,113	0,216	0,091	0,302	0,111	0,428
Leber	0,199	0,253	0,192	0,864	—	—

Versuch 16.

Adalbert C., 80 J. alt. Coma diabeticum.

Gramm Milchsäure in 100 g	A 5 Tage p. m.		B 12 Tage p. m.	
	Aldehydverf.	Titrat.	Aldehydverf.	Titrat.
Muskeln	0,286	0,657	0,336	0,488
Leber	0,202	0,689	0,259	0,954

4. Überblick der Versuchsresultate.

Um einen bequemen Überblick über die gewonnenen Resultate zu ermöglichen, habe ich alle in bezug auf das maximale Milchsäurebildungsvermögen der Muskeln bisher vorliegenden brauchbaren Werte, und zwar sowohl die von mir, als auch die von anderen Autoren herrührenden, in beistehendem Diagramme übersichtlich zusammengestellt. (Fig. 2.)

Man ersieht daraus zunächst, daß diese Werte für die normale Muskulatur des Menschen und der untersuchten Säugetiere (Pferd, Hund, Rind) durchaus der gleichen Größenanordnung angehören; die durch individuelle Verhältnisse bedingten Schwankungen bewegen sich zwischen 350 und 550 mg auf je 100 g feuchter Muskulatur, und es ist wahrscheinlich, daß bei Anwendung eines durchaus einheitlichen analytischen

Vorganges die effektive physiologische Schwankungsbreite noch eine weitere Einschränkung erfahren würde.

Man ersieht aus dem Diagramm weiterhin, daß die durch eine allgemeine Kachexie bedingte Beeinträchtigung der Stoffwechselvorgänge nicht ausreicht, um eine Herabminderung des Milchsäurebildungsvermögens ohne weiteres zu bewirken. Es dürfte dies mit der anderweitig festgestellten Tatsche zusammenhängen, daß die Muskulatur, als die wichtigste Verbrauchsstätte des Zuckers, die Tendenz besitzt, ihren Kohlenhydratbestand solange als möglich auf Kosten der anderweitig im Organismus angehäuften Glykogenvorräte intakt zu erhalten.

Zur Illustration dafür, daß dies aber nicht unter allen Umständen gelingt, kann der Versuch 8 dienen, wo wir den Lactacidogengehalt der Muskulatur bei einem Falle von Myelitis transversa mit hochgradiger Muskelatrophie auf ein Niveau absinken sehen, wie es unter normalen Verhältnissen niemals beobachtet wird. Wir werden (im Sinne der von Parnas und Wagner begründeten

Fig. 2.

Anschauung) vermuten dürfen, daß in einem solchen Falle die Lactacidogenverarmung mit einer Verminderung des Kohlenhydratbestandes in der atrophischen Muskulatur Hand in Hand gehe.

Wir wenden unsere Aufmerksamkeit nunmehr jenem Teile des Diagramms zu, der die diabetische Stoffwechselstörung als solche betrifft.

Ein Blick auf das Schema belehrt uns über die wichtige Tatsache, daß der diabetischen Stoffwechselstörung zweifellos die Tendenz innewohnt, das Milchsäurebildungsvermögen der Muskulatur herabzudrücken. Unter den 13 vorliegenden Beobachtungen an dem Coma diabeticum erlegenen Menschen sowie an phlorizindiabetischen und pankreasdiabetischen Hunden sehen wir in 11 Fällen das Milchsäurebildungsvermögen der Muskulatur unter der unteren Grenze der Norm (350 mg Milchsäure in 100 g feuchter Muskulatur) zurückbleiben; dabei treten 7 mal minimale Werte (weniger als 250 mg Milchsäure in 100 g feuchter Muskulatur) zutage, die nur einem Bruchteile der Norm entsprechen.

Wir können also die im Anfange der Arbeit aufgeworfene Frage, ob vielleicht im diabetischen Organismus die Zuckerüberschwemmung der Organe eine massenhafte und überreichliche Milchsäurebildung zur Folge habe, mit einer entschiedenen Verneinung beantworten.

Wir können ferner die von anderer Seite aufgestellte Mutmaßung, das Wesen der diabetischen Stoffwechselstörung sei zum Teil darin gelegen, daß der Zuckerabbau bei der Stufe der Milchsäure stecken bleibe, mit Entschiedenheit zurückweisen: denn von einer Anreicherung des diabetischen Organismus an Milchsäure oder an ihrer Vorstufe ist nicht im allerentferntesten die Rede.

Es drängt sich umgekehrt die Frage auf, ob die beobachtete Tendenz des diabetischen Organismus zur verminderten Milchsäurebildung etwas für das innerste Wesen des Diabetes Essentielles oder eine sekundäre Erscheinung sei.

Da scheint es mir denn doch, daß eine nüchterne Beurteilung der Beobachtungstatsachen uns vorderhand nötigt,

der Versuchung zu widerstehen, eine „Milchsäuretheorie des Diabetes“ auszuspinnen.

Mit der Beobachtung von Forschbach, der bei einem pankreasdiabetischen Hunde, den er 6 Tage nach der Operation getötet hatte, durchaus normale Milchsäurewerte in den Muskeln fand, könnte man sich allenfalls noch durch die Annahme abfinden, die Stoffwechselstörung sei hier noch nicht zur vollen Entfaltung gelangt; doch hätte auch eine solche Annahme etwas Erkünsteltes und Willkürliches.

Eine solche „Ausrede“ versagt aber vollends bei meinem Versuche 11, wo die Diagnose des Coma diabeticum bei einer kachektischen Frau (Sarkomerkrankung mit konsekutiver Phlegmone einer Extremität) nicht nur durch die Acetonurie intra vitam, sondern auch durch den Sektionsbefund des Weichselbaumschen Instituts (Atrophie des Pankreas) außer Frage gestellt war. Trotzdem war in diesem Falle das Milchsäurebildungsvermögen der Muskulatur ein durchaus normales. Es scheint mir, daß eine, wenngleich vereinzelte, Beobachtung dieser Art uns vor voreiligen Schlüssen warnen muß.

Es lag aber in bezug auf die Beziehungen der Milchsäurebildung zur diabetischen Stoffwechselstörung noch eine Möglichkeit vor, die ich nicht außer Betracht lassen zu sollen glaubte. Ich habe mir weiterhin die Frage vorgelegt, ob nicht vielleicht diabetische Störungen der Milchsäurebildung in deutlicherer Weise als in der Muskulatur in der Leber zutage treten, als in einem Organe, dessen zentrale Stellung im Kohlenhydratstoffwechsel ja unbestritten ist. Einige Stichproben über das Milchsäurebildungsvermögen der Leber normaler kachektischer und diabetischer Individuen (vgl. die Kurvenbilder auf Tafel 1) haben mich von dieser Vermutung aber alsbald wieder abgebracht.

Vorläufig scheint mir also die Frage der Milchsäurebildung beim menschlichen Diabetes so zu liegen, daß man zugeben muß, daß der diabetischen Stoffwechselstörung immerhin die Tendenz innewohnt, das Milchsäurebildungsvermögen der Muskulatur herabzudrücken, daß man aber nicht berechtigt ist, die Milchsäurefrage in das Zentrum des Diabetesproblems zu rücken.

Zusammenfassung.

Unter Anwendung der (durch neue Erfahrungen verbesserten) Technik der Milchsäurebestimmung in Organextrakten nach dem Aldehydverfahren wurde das postmortale Milchsäurebildungsvermögen der Muskulatur und Leber normaler, kachektischer und diabetischer menschlicher Individuen verglichen.

Dabei ergab es sich, daß die Zuckerüberschwemmung der Organe des diabetischen Organismus keinesfalls eine massenhafte und überreichliche Milchsäurebildung zur Folge hat. Auch muß die Mutmaßung, daß das Wesen der diabetischen Stoffwechselstörung etwa darin gelegen sei, daß der Zuckerabbau bei der Milchsäurestufe stecken bleibe, mit Entschiedenheit zurückgewiesen werden.

Dagegen hat man Veranlassung anzunehmen, daß der diabetischen Stoffwechselstörung eine entschiedene Tendenz innewohnt, das Milchsäurebildungsvermögen in der Muskulatur (nicht aber der Leber) herabzudrücken. Da diese Tendenz aber nicht ausnahmslos zur Geltung kommt, liegt keine Berechtigung vor, die Milchsäurefrage in das Zentrum des ganzen Diabetesproblems zu rücken.

Übt das in der Nahrung enthaltene Cholesterin einen Einfluß auf die Cholesterinausscheidung in der Galle aus?

Von

L. D'Amato.

(Aus der I. Medizinischen Klinik der Kgl. Universität in Neapel.)

(Eingegangen am 26. Januar 1915.)

Eine der wichtigsten Fragen in der Biochemie des Cholesterins ist diejenige nach den Beziehungen zwischen dem in der Nahrung aufgenommenen und dem mit der Galle ausgeschiedenen Cholesterin. Schon seit vielen Jahren erörtert man die Frage: Erscheint das Nahrungscholesterin in der Galle wieder? Wird bei größerer Zufuhr dieses Lipoids in der Kost auch mehr davon in der Galle ausgeschieden?

Das Problem hat nicht nur für die Pathologie eine weittragende Bedeutung, sondern spielt auch bei der alimentären Therapie einiger Krankheiten eine große Rolle.

Nach der Auffassung der Schüler von Naunyn, Thomas[1]), Kausch[2]) und Jankau[3]) übt die Ernährungsweise keinerlei Einfluß auf die Cholesterinausscheidung aus. In den diesbezüglichen Untersuchungen sah Naunyn die festeste Stütze für seine Lehre, nach der das Cholesterin ein Zerfallsprodukt von Gallenepithelien und kein Stoffwechselprodukt wäre.

Diese Behauptungen haben jedoch durch spätere Arbeiten keine Bestätigung erfahren.

---

[1]) Über die Abhängigkeit der Absonderung und Zusammensetzung der Galle von der Nahrung. Dissert. Straßburg 1890.

[2]) Über den Gehalt der Leber und der Galle an Cholesterin. Dissert. Straßburg 1891.

[3]) Über Cholesterin- und Kalkausscheidung in der Galle. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 29.

Schon Přibram[1]) konnte nachweisen, daß das Cholesterin der Nahrung resorbiert wird und die prozentuale Menge des Cholesteringehalts im Blute, jedoch nicht gleichzeitig das der Leber erhöht.

Die erste, präzise Aufschlüsse liefernde Arbeit auf diesem Forschungsgebiet verdanken wir Goodman[2]), der an Tieren mit Gallenblasenfisteln zeigte, daß die Ernährung die chemische Zusammensetzung der Galle beeinflußt. Eine an Eiweißstoffen reiche Diät erzeugte nicht nur vermehrte Ausscheidung des Cholesterins, sondern auch der Cholsäure. Zu dem gleichen Ergebnis kam man, wenn man Tieren Kalbshirn oder rote Blutkörperchen, beides Gewebe, die, wie bekannt, erhebliche Cholesterinmengen enthalten, verabreichte. Führte man dagegen diese Substanz auf direktem Wege in die Blutbahn ein, so blieb diese Wirkung aus, d. h. weder das Cholesterin noch der Cholsäuregehalt waren in der Galle erhöht.

Goodman folgerte auf Grund seiner Resultate, daß die eiweißreiche Kost eine Reizwirkung auf die Leberzellen ausübe und infolgedessen die Menge ihrer Sekretionsprodukte ansteige.

Kosumoto[3]) beobachtete, daß das Cholesterin der Galle und der Faeces bei Hunden sich vermehrte, denen man subcutan Toluylendiamin injiziert hatte, ein Haemolyticumgift, welches das Cholesterin der roten Blutkörperchen in Freiheit setzt.

Von besonderem Interesse erscheinen die von Bacmeister[4]) an Menschen mit Gallenblasenfisteln ausgeführten Versuche. Wenn auch eindeutige Schlüsse aus ihnen nicht zu ziehen sind, so gewinnt doch hier die Tatsache, daß das Gallencholesterin aus der Nahrung stammt, eine prägnantere Gestalt, denn die höchsten Werte fanden sich bei eiweißreicher Kost und die niedrigsten bei einer vorwiegend aus Kohlenhydraten bestehen-

---

[1]) Beitrag zur Kenntnis des Schicksals des Cholesterins im tierischen Organismus. Diese Zeitschr. 1, 1906.

[2]) Über den Einfluß der Nahrung auf die Ausscheidung von Gallensäuren und Cholesterin durch die Galle. Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 1907.

[3]) Über den Einfluß des Toluylendiamins auf die Ausscheidung des Cholesterins in der Galle. Diese Zeitschr. 13, 1908.

[4]) Untersuchung über Cholesterinausscheidung in menschlichen Gallen. Diese Zeitschr. 26, 1910.

den Diät. Der Verfasser stellte jedoch Schwankungen in der Tagesmenge des Cholesterins fest, die nicht ausschließlich im Zusammenhang mit der Kostform zu stehen schienen.

Negative Resultate erzielte Martiri[1]), der trotz Verabreichung großer Cholesterinmengen an zwei Patienten, denen man Gallenblasenfisteln angelegt hatte, gar keinen Anstieg in dem Cholesteringehalt der Galle konstatierte, obgleich kein Zweifel darüber bestand, daß das Lipoid vom Darm absorbiert worden war.

In jüngster Zeit ist das Problem wieder von Bacmeister und Havers[2]) in Angriff genommen worden, die an Fistelhunden die Ausscheidung des Gallencholesterins bei verschiedenen Ernährungsweisen studiert haben. Sie konnten dabei wahrnehmen, daß bei sehr reichlicher Nahrung der Cholesteringehalt prozentual anstieg, während er bei knapp zugemessener sank. In gleicher Weise bewirkte hoher Fett- oder Eiweißgehalt der Kost Zunahme der Gesamtmenge an Cholesterin, namentlich des freien, während eine hauptsächlich aus Kohlenhydraten bestehende Diät Verminderung des freien Cholesterins, dagegen Steigerung des gebundenen zur Folge hatte.

Von der gleichen Fragestellung gehen in ihrer erst vor ganz kurzem erschienenen Arbeit Ignatowski und Monossohn[3]) aus. Die Verfasser führten ihre Untersuchungen an einem Menschen mit künstlicher Gallenfistel aus, mit dem Ergebnis, daß bei einer vorwiegend eiweißhaltigen Nahrung sowohl die festen wie flüssigen Bestandteile der Galle sich vermehrten.

Wie aus diesem flüchtigen Überblick über die vorhandene Literatur hervorgeht, liegen nur wenige und sich widersprechende Angaben bisher über das Thema vor. Die Frage, ob das Cholesterin der Nahrung mit der Galle ausgeschieden wird oder nicht, ist mithin noch immer nicht geklärt.

Um diese Lücke der Cholesterinforschung auszufüllen, haben wir die hier mitgeteilten Untersuchungen unternommen.

---

[1]) Contrib. alla conoscenza della colesterina biliare nell' uomo. Rivista crit. di Clin. med. n. 12, 14, 1912.

[2]) Zur Physiologie und Pathologie des Cholesterinstoffwechsels. Deutsche med. Wochenschr. 8, 1914.

[3]) Untersuchung über die Gallenabsonderung beim Menschen unter einigen Nahrungs- und Arzneimitteln. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie 16, H. 2, 1914.

An einigen kräftigen Hunden wurde unter der geschickten Leitung des Professors Pasanise die Gallenfisteloperation ausgeführt, und erst nach $2^1/_2$ Monaten, als die dadurch bewirkten Entzündungen der Wundstelle vollständig oder nahezu verschwunden waren, wurden die Tiere für die Versuche allmählich trainiert.

Die Hunde erhielten zunächst eine kohlenhydratreiche Kost (Brot, Kartoffeln); als ich dann zu einer lipoidreichen Diät übergehen wollte, wurden 200 g Ochsenhirn und 3 Eier täglich hinzugefügt. Das Cholesterin wurde nach der Methode von Windaus bestimmt mit Ausnahme der 3. Serie, in welcher die Gewichtsmethode nach Grigaut benutzt wurde. Die Gallensalze ermittelte man nach den von Exner und Heyrowski angegebenen Vorschriften.

Die Resultate sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Aus den untenstehenden Tabellen läßt sich ersehen, daß eine an Lipoiden reiche Kost die Menge des Gallencholesterins, wenn auch nur um sehr wenig, so doch ausnahmslos erhöht. In Versuch 1 mit einer durchschnittlichen Tagesausscheidung von 0,007 g Gesamtcholesterin gelangen wir nach einigen Tagen mit lipoidreicher Nahrung zu dem Mittelwert von 0,0083 g pro die.

In Versuch 2 steigt der Mittelwert von 0,0055 g Gallencholesterin nach wenigen Tagen der Ernährung mit hohem Lipoidgehalt auf eine tägliche Ausscheidungsmenge im Mittel von 0,0079 g.

Tabelle I.

Datum	Gallenmenge	Gallensaure Salze		Freies Cholesterin		Gebundenes Cholesterin		Gesamtcholesterin		Bemerkungen
	ccm	Abs. Wert g	Proz. Wert ‰	Abs. Wert g	Proz. Wert ‰	Abs. Wert g	Proz. Wert ‰	Abs. Wert g	Proz. Wert ‰	
24. II.	30	0,357	11,90	0,0035	0,1166	0,0025	0,0833	0,006	0,1999	Kohlenhydratkost
15. III.	35	0,455	18	0,005	0,1428	0,003	0,0857	0,008	0,2285	
Mittelwerte		0,406	12,45	0,00425	0,1297	0,00275	0,0840	0,007	0,2137	
Vom 22. III. bis 28. III.	30	0,446	14,875	0,005	0,166	0,003	0,10	0,008	0,266	Kost bestehend aus Kohlenhydraten, Ochsenhirn und Eiern.
31. III.	25	0,395	15,80	0,0045	0,18	0,0035	0,133	0,008	0,320	
3. IV.	25	0,411	16,45	0,005	0,20	0,004	0,16	0,009	0,360	
Mittelwerte		0,417	15,708	0,00483	0,182	0,0035	0,131	0,0083	0,315	

Tabelle II.

Datum	Gallen-menge ccm	Freies Cholesterin Abs. Wert g	Freies Cholesterin Proz. Wert °/₀₀	Gebundenes Cholesterin Abs. Wert g	Gebundenes Cholesterin Proz. Wert °/₀₀	Gesamtcholesterin Abs. Wert g	Gesamtcholesterin Proz. Wert °/₀₀	Bemerkungen
4. V.	25	0,003	0,12	0,002	0,08	0,005	0,20	Kohlenhydratkost.
10. V.	32	0,004	0,125	0,002	0,0625	0,006	0,1775	
Mittelwerte		0,0035	0,122	0,002	0,0713	0,0055	0,1938	
Vom 24. V. bis 28. V.	28	0,0045	0,160	0,0025	0,089	0,007	0,250	Kost bestehend aus Kohlenhydraten, Ochsenhirn und Eiern.
30. V.	25	0,0051	0,204	0,0034	0,136	0,0085	0,340	
5. VI.	30	0,0048	0,153	0,0037	0,123	0,0083	0,276	
Mittelwerte		0,0047	0,172	0,0032	0,116	0,0079	0,288	

Tabelle III.

Datum	Gallenmenge ccm	Gesamtcholesterin Abs. Menge g	Gesamtcholesterin Proz. Wert °/₀₀	Bemerkungen
15. V.	25	0,005	0,20	Kohlenhydratkost.
17. V.	32	0,006	0,19	
Mittelwerte		0,0055	—	
Vom 20. V. bis 27. V.	28	0,007	0,25	Kost bestehend aus Kohlenhydrat, Hirn und Eiern.
7. VI.	18	0,0034	0,19	Kohlenhydratkost.

In Versuch 3 erreicht die Tagesausscheidung im Mittel von 0,055 g in den Tagen, an welchen lipoidreiche Kost verfüttert wurde, den Wert von 0,067 g, um in den folgenden Tagen, als das Tier auf seine ursprüngliche, vorwiegend aus Kohlenhydraten bestehende Kost zurückgeführt wurde, auf 0,0034 g zu sinken.

Die Ergebnisse sind also absolut konstant. Es ist bemerkenswert; daß sich die Zunahme nicht nur auf das freie oder das gebundene Cholesterin bezieht, sondern auf beide.

In der einzigen, von mir ausgeführten Untersuchung der Gallensalze habe ich ebenfalls als Effekt der lipoidhaltigen Fütterung eine Zunahme derselben festgestellt. Die tägliche Ausscheidung im Mittel von 0,406 g stieg auf 0,417 g pro die an. Auch hier handelt es sich um eine minimale Steigerung.

Diese Ergebnisse ermangeln nicht des Interesses. Vor allem tritt aus ihnen die Tatsache mit aller Schärfe hervor, daß näm-

lich, wenn man einem Tier mit einer lipoidreichen Kost eine erhebliche Menge Cholesterin beibringt, der Gehalt dieser Substanz in der Galle steigt, und zwar um bedeutend weniger, als die dargereichte Menge betrug. In unserem Falle kann man grob berechnen, daß mittels des Ochsenhirns und den Eiern täglich ungefähr 5 bis 6 g Cholesterin mehr als in den vorhergehenden Tagen eingeführt wurden. Die Zunahme in der Ausscheidung betrug im Mittel 1 bis 2 mg Gallencholesterin täglich.

Auf Grund dieses Faktums, das mit den von Goodman erzielten Resultaten völlig übereinstimmt, könnte man fragen: Wird das Cholesterin aus der Nahrung nun hauptsächlich durch die Leber ausgeschieden, wie z. B. die Salze und Stickstoffschlacken durch die Niere? Offenbar ist dies doch nicht der Fall.

Es wäre müßig, an der Tatsache zu zweifeln, daß das in der Nahrung enthaltene Cholesterin nicht assimiliert wird. Es ist durch unzählige Versuche bewiesen, daß das Cholesterin leicht vom Körper absorbiert und nur ein kleiner Bruchteil, als solcher oder chemisch abgebaut, mit den Faeces ausgeschieden wird.

Auch die Untersuchungen von Weltmann und Biach[1]) über das verschiedene Verhalten der Pflanzenfresser und Fleischfresser in bezug auf das Schicksal des Cholesterins im tierischen Organismus geben uns keinen Aufschluß.

Diese Arbeiten haben ergeben, daß bei den Pflanzenfressern sich das aufgenommene Cholesterin im Blutserum anhäuft und sogar, nachdem kein Cholesterin mehr verabreicht wird, nicht ausgeschieden zu werden braucht. Bei den Carnivoren hingegen tritt eine vorübergehende Hypercholesterinämie auf, wobei das Cholesterin rasch wieder abgegeben wird. Den Grund für das abweichende Verhalten sahen die Verfasser in der verschiedenartigen Funktion der Leber. Bei den Herbivoren können sich große Cholesterinmengen in der Leber, in den Nebennieren und in den Eierstöcken ansammeln, während bei den Carnivoren der Cholesterinüberschuß sofort mit der Galle abgesondert wird.

Meine Versuchstiere waren aber Hunde, also gerade Fleischfresser, bei denen die Ausscheidung des dargereichten Chole-

[1]) Zur Frage der experimentellen Cholesteatose. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 14, 1913.

sterins schnell und reichlich hätte vor sich gehen sollen. In der Tat betrug aber die Zunahme des Gallencholesterins lächerlich wenig im Vergleich zu der mit der Nahrung aufgenommenen Menge.

Martiri versucht den Umstand, warum bei größerer Cholesterinaufnahme eine entsprechende Steigerung des Cholesteringehalts in der Galle ausbleibt, durch folgende Beobachtung zu erklären. Bei Menschen oder Tieren mit permanenter Gallenfistel findet ein ständiger Cholesterinverlust durch die Galle statt, so daß allmählich die Organe an Cholesterin verarmen. Unter solchen Bedingungen ist es nun wahrscheinlich, daß ein Überschuß des Nahrungscholesterins sofort aufgesaugt und von den Geweben begierig festgehalten wird.

Die Beobachtung Martiris ist durchaus richtig, doch werden auch dadurch, meiner Meinung nach, die von uns ermittelten Tatsachen nicht restlos erklärt. Der Hinweis genügt, daß das mit der Galle bei einem Fistelhund ausgeschiedene Cholesterin kaum einige Zentigramm täglich ausmacht, daß also in 3 bis 4 Versuchsmonaten der Gesamtverlust 1 g, höchstens $1^1/_2$ g beträgt, um die Deutung hinfällig erscheinen zu lassen. Ein einziger Tag mit reichlicher Lipoidnahrung hätte genügt, um die Verluste wieder wettzumachen, geschweige denn 5 bis 6 Tage mit einer Kost von hohem Lipoidgehalt, wie das bei unseren Hunden der Fall war. Erst nach diesem Zeitraume ging man zu der ersten Cholesterindosierung über, während die letzte Dosierung 10 bis 12 Tage nach Beginn der Versuchsdiät stattfand.

Gestützt auf meine Versuche glaube ich mit Sicherheit schließen zu können, daß man die Galle nicht als den Hauptausscheidungsweg für das überschüssige, mit der Nahrung aufgenommene Cholesterin ansehen kann, auch nicht bei den fleischfressenden Tieren. Andererseits aber haben wir nicht das Recht, wie es die Naunynsche Schule tat, zu behaupten, daß das Gallencholesterin mit dem Nahrungscholesterin in gar keiner genetischen Beziehung steht. In meinen Untersuchungen war der Einfluß der Nahrung, wenn auch minimal, so doch konstant.

Ebensowenig darf man annehmen, daß der Überschuß an verzehrtem Cholesterin sich fast vollständig in Cholalsäure umwandelt und dann als gallensaure Salze ausgeschieden wird.

Bekanntlich haben einige Forscher, darunter Grigaut[1]), die Behauptung aufgestellt, daß das Cholesterin in der Leber in Cholalsäure übergeht und als gallensaure Salze den Körper verläßt. Wenn dies zuträfe, so wäre es verständlich, warum das im Überschuß zugeführte Cholesterin mit der Galle mehr in Form von Cholalsäure als in Form von Cholesterin zur Ausscheidung gelangt. Es ist nicht meine Absicht, in eine Diskussion über die zur Stütze dieser Hypothese erbrachten Beweisgründe näher einzugehen. Nur so viel will ich hier sagen, daß meine Versuche sie nicht ganz bewahrheiten. Denn nach einer überreichen Cholesterinfütterung ist die Ausscheidung der gallensauren Salze um etwa 1 cg täglich gestiegen, also um eine verschwindend kleine Menge im Vergleich zur aufgenommenen.

Folglich wird nur ein minimaler Bruchteil des überschüssigen Nahrungscholesterins durch die Galle eliminiert, die Hauptmenge erfährt ein anderes Schicksal, worauf hier aber nicht weiter eingegangen werden soll.

Zusammenfassung.

Verabreicht man an Hunde mit künstlicher Gallenfistel eine lipoidreiche Nahrung, so bewirkt diese eine konstante, unendlich kleine Zunahme des Gallencholesterins und der gallensauren Salze. Diese Zunahme ist gering und rechtfertigt nicht die Auffassung, die Galle sei der vorzüglichste Ausscheidungsweg für das Cholesterin aus dem Organismus, noch die Ansicht, daß das aufgenommene Cholesterin zum größten Teil in Cholalsäure übergeht und als gallensaure Salze ausgeschieden wird.

---

[1]) Le cycle de la cholestérinémie. Paris 1913.

Beiträge zur Frage: Wie wird pflanzliches Eiweiß der Nahrung im Tierkörper verwertet?

I. Mitteilung.

Von

H. Boruttau in Berlin.

(Eingegangen am 5. Februar 1915.)

Die tieferdringende Kenntnis von der Zusammensetzung der Eiweißkörper, insbesondere der quantitativen Beteiligung der einzelnen Bausteine, die uns die Arbeiten Emil Fischers und seiner Mitarbeiter ermöglicht haben, erlaubt ein Eindringen in Probleme des tierischen Stoffwechsels, von denen vorher höchstens eine allgemeine, vielfach unklare Vorstellung geherrscht hatte, — Probleme, denen teils ein allgemeineres, biologisches, teils aber auch ein hohes praktisches, volkswirtschaftliches und medizinisches Interesse zukommt. Die in der gegenwärtigen Kriegszeit natürlichen Bestrebungen, die Volksernährung in möglichst wirtschaftlicher Weise zu gestalten, drängen erneut die Aufmerksamkeit auf ein Thema, dessen Fragestellung schon älter ist, und das unter dem Eindruck der erwähnten neuen Kenntnisse von der verschiedenen quantitativen Beteiligung der Bausteine am Aufbau der verschiedenen Eiweißkörper vor etwa fünf Jahren zu einer Anzahl von Experimentalarbeiten geführt hat; es handelt sich darum inwieweit die verschiedenen Eiweißstoffe, insbesondere nach den Kategorien: tierisches arteigenes, tierisches artfremdes und pflanzliches Eiweiß — für den Aufbau des tierischen und menschlichen Organismus von verschiedenem Werte sind. Die Veranlassung zu diesen Arbeiten, wie auch ihre Methodik, steht in enger Beziehung zu der Frage nach dem sog. physiologischen Eiweißminimum: schon 1897 hatte Rubner ausgesprochen, daß es deren viele gibt, je

nachdem mit welchem Nahrungsmittel dasselbe erreicht werden soll. Auch wird jeder von vornherein geneigt sein, ein äußerstes Minimum zu unterscheiden bei durch Hunger oder langedauernde eiweiß- und kalorienarme Nahrung stark herabgesetztem Körpergewicht, — und ein mehr relatives, d. h. diejenige Menge Eiweiß, bei deren Aufnahme ein Individuum bei sonst genügender oder reichlicher Zufuhr an kohlenstoff- und wasserstoffhaltiger Nahrung vor Stickstoffverlust bewahrt und leistungsfähig erhalten wird: um das nämliche mit ausschließlicher Eiweißnahrung oder doch wenigstens eiweißreicher, aber kohlenhydrat- und fettarmer Kost zu erreichen, muß natürlich weit mehr Eiweiß zersetzt werden, von dem eben ein Teil nicht dem Ersatz abgenützter Körpersubstanz, sondern dem Energieumsatz des Organismus dient.

Dementsprechend sind auch die Ergebnisse der betreffenden Arbeiten verschieden ausgefallen und nicht ohne weiteres vergleichbar, welche die „Wertigkeit" der verschiedenen Eiweißstoffe dadurch zu ermitteln suchten, daß sie diejenigen Mengen auffinden wollten, die unter sonst gleichen Umständen das Eiweißminimum darstellten.

E. Voit und Jos. Zisterer[1]) stellten Versuche am Hunde an, den sie vor jedem Fütterungsversuch hungern ließen, bis die Stickstoffausscheidung annähernd konstant wurde: das Mittel des in den letzten beiden Hungertagen ausgeschiedenen Stickstoffs legten sie der in der Fütterungsperiode zugeführten Kost zugrunde, die aus dieser Stickstoffmenge in Gestalt des zu prüfenden Eiweißkörpers plus stickstofffreien Nährstoffen von den Bedarf reichlich deckendem Kaloriengehalt gebildet wurde. Der mehrtägigen Fütterungsperiode ließen sie dann wieder eine Hungerperiode folgen, während der die anfänglich stark herabgesetzte Stickstoffausscheidung wieder zu annähernder Konstanz anstieg. Aus den Werten derselben für die beiden letzten Tage dieser Hunger-Nachperiode und für die beiden letzten Tage der Hunger-Vorperiode berechneten sie unter Einführung einer hier der Kürze halber zu übergehenden Korrektur den „mittleren täglichen Stickstoffverlust im Hungerzustande"; mit diesem verglichen sie dann Zufuhr und Abgabe von Stick-

[1]) J. Zisterer, Zeitschr. f. Biol. 53, 157. — E. Voit u. Z., ebenda 457, 1909.

stoff im Mittel der letzten Tage der Fütterungsperiode; die Abgabe war teils etwas größer, die N-Bilanz also negativ; in den letzten Muskeleiweiß- und Caseinversuchen dagegen kleiner als die Aufnahme, die Bilanz also positiv. Die Unterschiede bewegten sich allerdings in engen Grenzen, und die bei Zufuhr desselben Eiweißkörpers in zwei verschiedenen Versuchen erhaltenen Zahlen für die Eiweißausscheidung bei Fütterung sowohl, wie vor- und nachher bei Hunger gingen so weit auseinander, daß die Autoren selbst wenigstens aus ersteren allein keine sichere Schlußfolgerung für möglich erklären: indem sie aber die Verhältnißzahlen nach der Gleichung

$$x = 100 \cdot \frac{\text{N-Ausscheidung bei Zufuhr}}{\text{N-Ausscheidung bei Hunger}}$$

bilden und aus denselben für die beiden Versuche mit dem nämlichen Eiweißstoff die Mittelwerte ziehen, bekommen sie Ziffern, die nach ihnen „immerhin auf eine gewisse Abhängigkeit des Eiweißzerfalles von der Natur der Eiweißkörper hindeuten".

Als Eiweißkörper verschiedener Art benutzten sie Muskeleiweiß in Gestalt von einem durch Auslaugen von Rindfleisch mit Wasser und Trocknen im Vakuum gewonnenen Präparat, Casein (nach Hammarsten) und Weizeneiweiß in Gestalt von Aleuronat[1]). Setzten sie für das Verhältnis x (siehe oben) bei Muskeleiweiß 100, so berechnete sich für Aleuronat 110, für Casein 111, — d. h. was mit 100 Teilen Muskeleiweiß erreicht wurde, dazu waren 110 Teile Aleuronat, 111 Teile Casein nötig.

Zur Erörterung der Frage, ob das aufgenommene Eiweiß im Verdauungskanal vollständig aufgespalten wird, haben die Autoren ferner noch in der geschilderten Weise mit Trypsin verdautes und mit Säure gespaltenes Casein untersucht, — mit dem Ergebniß, daß, wenn das Verhältnis $\frac{\text{Stickstoffausscheidung bei Zufuhr}}{\text{Stickstoffausscheidung bei Hunger}}$ für ungespaltenes Casein gleich 100 gesetzt wird, es für verdautes Casein 111 und für säuregespaltenes gar 156 beträgt: die Wertigkeit des letzteren wäre also nicht mehr ganz $^2/_3$ vom ungespaltenen, woraus Voit und Zisterer den Schluß ziehen, daß die normale Aufspaltung der Eiweißkörper im Darm nicht vollständig sein könne, vielmehr gewisse Polypeptide als solche

[1]) Hundhausen.

zur Resorption gelangen müssen und die „Kerne“ bilden, mit deren Hilfe unter Anlagerung weiterer Gruppen die Eiweißsynthese stattfinde.

Etwas anders ist Michaud in seinem Beitrag zur Kenntnis des physiologischen Eiweißminimums[1]) vorgegangen: als Versuchstier verwendete auch er den Hund, den er erst längere Zeit vollständig hungern ließ und dann auf eine stickstofffreie Kost (Zucker und Schmalz) setzte, bei der weiterhin das Körpergewicht abnahm. Als „Eiweißminimum“ nahm er dann den Mittelwert der Stickstoffausscheidung der letzten 14 Tage dieser Periode an: ebensoviel Stickstoff gab er dann außer demselben stickstofffreien Material in den darauffolgenden Fütterungsperioden, und zwar in Gestalt verschiedener Eiweißkörper, nämlich: körpereigenes Eiweiß in Gestalt von gehacktem Hundefleisch und Hundeserum; tierisches Eiweiß in Gestalt von Pferdefleisch, Casein und Nutrose, pflanzliches Eiweiß in Gestalt von Glidine (Weizeneiweiß) Dr. Klopfer und von Edestin (aus Hanfsamen) Höchst. Es stellte sich heraus, dass nur mit körpereigenem (Hundefleischbrei-) Eiweiß auf diese Weise das Stickstoffgleichgewicht auf der Stufe des „Minimums“ wirklich erhalten werden konnte; sowohl beim Casein, wie bei den beiden Pflanzeneiweißarten blieb die Stickstoffbilanz vielmehr negativ, und es hätte deren Ration erhöht werden müssen, um sie positiv zu machen, was ja bei Zulage von Fett und Kohlenhydrat bekanntlich wohl gelingt, während bei bloßer Zufuhr auch größerer Mengen Pflanzeneiweiß allein amerikanische Autoren keine positiven N-Bilanzen haben erzielen können (siehe weiter unten). Michauds Ergebnisse, die er auch in übersichtlicher Form graphisch darstellt, erlauben nun ihrerseits ein Urteil über die relative Wertigkeit der einzelnen Eiweißkörper. So führt er an: bei einer Zufuhr von 1,9 g N in Form von Glidine war die tägliche N-Ausscheidung 2,53 und 2,19 g, in Form von Edestin hingegen 2,00 g. In einer anderen Versuchsreihe betrug bei Zufuhr von 1,4 g N als Hundemuskelfleisch die tägliche N-Ausfuhr 1,25 g, in Form von Casein 1,30 g. In späteren Perioden, in denen nur 0,8 g N zugeführt wurde[2]),

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 405, 1909.

[2]) zu wenig auch bei körpereignem Eiweiß, um positive N-Bilanz zu erreichen.

war die Stickstoffausscheidung bei Hundebreifütterung 0,94 g, bei Caseinfütterung 0,997 g. Wieder ein andermal war zwischen Hundefleischbrei und Casein kein Unterschied vorhanden. Dagegen schieden die Tiere regelmäßig bei Pferdefleischfütterung mehr Stickstoff aus als bei Hundefleisch- bzw. Hundeblutserumfütterung. Wegen der Hinweise auf frühere ähnliche Versuchsergebnisse von Röhmann und Zadik, Caspari, Lüthje usw. kann auf Michauds Arbeit selbst verwiesen werden. Viel umfangreicher angelegt, mit dem Ziel, für den hier in Frage stehenden Vergleich der biologischen Wertigkeit von Eiweißkörpern oder bei zusammengesetzteren Nahrungsmitteln richtiger gesagt Stickstoffsubstanzen, ziffernmäßige Mittelwerte zu finden, ist die in Rubners Institut gemachte Arbeit von K. Thomas[1]). Sie unterscheidet sich von den soeben besprochen vor allem dadurch, daß sie sich durchweg auf den Menschen bezieht. Es sind in ihr zunächst aus anderen Arbeiten und aus Selbstversuchen Werte für das Stickstoffminimum zusammengetragen, die dadurch erhalten wurden, daß die Versuchsperson sich ausschließlich von dem in Betracht kommenden Nahrungsmittel ernährte. Bei Steigerung der Zufuhr bis zum Übergang (oder wenigstens der Annäherung) von negativer zu positiver Stickstoffbilanz ergeben sich die nötigen Werte resorbierten Stickstoffs resp. Eiweißes, und es zeigt sich, daß bei genügender Kalorienzufuhr das Stickstoffminimum bei ausschließlicher Ernährung mit (zu geeigneten Kuchen gebackenem) Weizenmehl über doppelt so hoch war (etwa 13 g) wie bei ausschließlicher Ernährung mit Kartoffel oder mit Milch (etwa 6 g), — bei letzterer wenigstens dann, wenn sie durch Zusatz von Rahm und Zucker genügend kalorienreich gemacht und der Frauenmilch ähnlich war. Es wurde dadurch auch der Beweis geliefert, daß auch der Erwachsene unter entsprechenden Bedingungen mit ebensowenig Eiweiß in seiner Nahrung auskommen kann, wie das nach Rubner und Heubner[2]) für den Säugling der Fall ist.

Zur Berechnung der biologischen Wertigkeit aus seinen Versuchen geht Thomas davon aus, daß dieselbe ein prozentisches Verhältnis bedeutet, das angibt, wieviel Teile Körper-

[1]) Arch. f. Anat. und Physiol., physiol. Abt. 1909, 219.
[2]) Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. 1, 1, 1905.

stickstoff durch 100 Teile Nahrungsstickstoff vertreten werden können. Zu seiner Berechnung wird es darauf ankommen, wie die betr. Stickstoffsubstanz ausgenützt wird. Wird sie so gut wie vollständig resorbiert, wie meistens bei tierischem Eiweiß und gut „aufgeschlossenen" Vegetabilien (siehe unten), so stammt der Kotstickstoff sowohl in der Hungerperiode wie auch in der Fütterungsperiode nur vom Körper, wird sie schlecht resorbiert, so geht ein Teil ihres Stickstoffs zu dem vom Körper stammenden hinzu in den Kot. Bei dazwischenliegendem Verhalten ist die Beurteilung schwieriger. Thomas stellt drei Formeln auf, nämlich erstens:

$$\text{Wertigkeit gleich } 100 \cdot \frac{\text{Urin-N bei N-freier Kost} + \text{Bilanz}}{\text{aufgenommener Stickstoff}}$$

zweitens:

$$\text{Wertigkeit gleich } 100 \cdot \frac{\text{Urin-N stickstofffrei plus Kot-N} + \text{Bilanz}}{\text{aufgenommener Stickstoff}}$$

drittens, indem als durchschnittliche Kotstickstoffmenge bei stickstofffreier Nahrung 1 g angesetzt wird:

Wertigkeit gleich

$$100 \cdot \frac{\text{Urin-N bei stickstofffr. K.} + \text{Kot-N} + \text{Bilanz} + 1{,}0}{\text{aufgenommener N minus Kot-N} + 1{,}0}$$

Letztere Berechnungsart gilt vorwiegend für schlecht resorbierbare Nahrungsmittel. Wo nötig, wurde aus mehreren Berechnungsarten das Mittel gezogen.

In den Selbstversuchen begann Thomas mit dreitägiger reiner Kartoffelkost und genoß in den 2- bis 3 tägigen stickstofffreien Perioden 750 bis 1000 g Kohlenhydrate täglich in Gestalt entweder eines Breies aus rohem Stärkemehl (6 Teile), Milchzucker (6 Teile) und Rohrzucker (1 Teil), mit etwas Zitronen- oder Himbeersaft, oder in Gestalt von aus entsprechenden Ingredienzien nach einem mitgeteilten Rezept gebackenen Kuchen. Der Kot wurde abgegrenzt mit Agar und Bolus. Stickstoffverluste durch Haut und Haar wurden vernachlässigt. Die zu untersuchenden N-haltigen Nahrungsmittel wurden zu jener Grundkost hinzugesetzt. Als Stickstoffausgabe im Urin bei N-freier Nahrung wurde diejenige des letzten Tages der N-freien Perioden eingesetzt, die Berechnung der Wertigkeit erfolgte für die Einzeltage mit Zulagen bestimmter Nahrungsmittel

besonders, unter Ausrechnung von Mittelzahlen[1]). Es wurden folgende stickstoffhaltigen Nahrungsmittel berücksichtigt und folgende Mittelwerte für die biologische Wertigkeit erhalten:

Rindfleisch	104,74 %[2])
Fischfleisch (Schellfisch und Kabeljau)	94,46 %
Krabben	79,15 %
Kuhmilch	99,71 %
Nutrose	69,02 %
Casein	70,14 %
Hefe	70,52 %
Weizenmehl	39,56 %
Mais	29,52 %
Kartoffel	78,89 %
Reis	88,32 %
Blumenkohl	83,88 %
Spinat	63,83 %
Erbsen	55,73 %
Kirschen	78,57 %

An diesen Ergebnissen, zunächst unter der Voraussetzung, daß den Zahlen allgemeinere Gültigkeit zukommt, fällt mancherlei auf und ist geeignet, auf die Vorgänge der Eiweißsynthese im Tierkörper Licht zu werfen, darunter Punkte, die Thomas schon selbst in seiner Besprechung derselben erwähnt oder andeutet.

Daß die biologische Wertigkeit der Stickstoffsubstanzen von „Fleisch"[3]) und von „Milch" um 100 % liegt und höher ist als diejenige von Casein resp. Nutrose[4]), von Hefe und den N-Substanzen pflanzlicher Herkunft, kann in der Tat nur dahin gedeutet werden, daß die erstgenannten Nahrungsmittel alle Komponenten bei einander und in dem Mengenverhältnis enthalten, wie sie zum Aufbau der Körpereiweißsubstanzen

---

[1]) Siehe die Tabelle a. a. O. S. 266.

[2]) Würde also mehr als sein gleiches Gewicht Körpereiweiß bilden können!

[3]) Fischfleisch und noch mehr das Fleisch der wirbellosen Krabbe ist „minderwertiger".

[4]) Auch durch lange Verdauung abgebautes Casein findet Thomas im Gegensatz zu Voit und Zisterer (a. a. O.) dem nativen Casein gleichwertig.

einschließlich der phosphorhaltigen Kernstoffe notwendig sind. Daß hier die sog. Extraktivstoffe offenbar eine Rolle spielen, darauf weist Thomas ausdrücklich hin. Es fällt aber weiterhin auf, daß die biologischen Wertigkeiten für Weizenmehl, Mais und Erbsen so außerordentlich zurückstehen gegenüber denjenigen der Stickstoffsubstanzen von Kartoffeln, Reis, Blumenkohl, Spinat und Kirschen. Das verwendete Weizenmehl bildete zusammen mit den Bestandteilen der stickstofffreien Grundkost eine ganz besonders mineral- und extraktivstoffarme Kost, und die Stickstoffsubstanzen des Weizenmehls sind neben geringen Mengen Albumin vorwiegend die Eiweißkomponenten des sog. Klebers, das Glutenin und das alkohollösliche Gliadin. Im Mais wiegt das gleichfalls alkohollösliche Zein vor. Aus den außerordentlich gründlichen Untersuchungen der amerikanischen Forscher wissen wir, daß diese Pflanzeneiweißarten sämtlich besonders stark in bezug auf die Mengenbeteiligung der einzelnen Bausteine vom tierischen Eiweiß abweichen. Wie dies auf Grund der ersten dahingehenden Hydrolysenergebnisse Abderhalden, ferner Zisterer, Michaud und Thomas übereinstimmend angeben, muß hieraus schon von vornherein auf eine gewisse „Minderwertigkeit“ dieser Eiweißkörper geschlossen werden, in dem Sinne, daß zum Aufbau von Körpereiweiß eine größere Menge von ihnen zersetzt und stickstoffhaltiger „Abfall“ ausgeschieden werden muß, und Thomas erwartet schon aus dem 3 mal höheren Glutaminsäuregehalt des Weizeneiweißes heraus eine Drittelwertigkeit!

Es erscheint biologisch äußerst unwahrscheinlich, daß die große Zahl der pflanzenfressenden Landtiere, die an Gewicht die reinen Fleischfresser bedeutend überwiegen, aus den Stickstoffsubstanzen der Pflanzennahrung ihr Körpereiweiß in dermaßen verschwenderischer Weise mit einem Abfall bis zu 2 Dritteln des Materials aufbauen sollen. Hier kann uns in den Ergebnissen der Thomasschen Versuche die Tatsache als Leitstern dienen, daß (ganz abgesehen vom Reis, dessen Verhalten Gegenstand besonderer Untersuchungen von mir bildet) die Sticksoffsubstanz der (NB. in der Schale gekochten) Kartoffeln, von Blumenkohl, Spinat und Kirschen eine viel höhere, der des Fleischeiweißes näherkommende biologische Wertigkeit aufweist. Gewiß handelt es

sich hier nicht nur um Eiweißkörper, sondern um anderes stickstoffhaltiges Material, — und was dabei hauptsächlich in Betracht kommt, ist, daß es sich hier nicht wie bei Weizenmehl und Maisgrieß um fast isolierte, im Zustande relativer Unvermischtheit befindliche Reservestoffe des Inneren von Kotyledonen handelt, sondern um den Inhalt lebender Pflanzenzellen und Ausscheidungen derselben in Gestalt der Cuticularsubstanzen von Blatt- und Stielteilen, Schalen von Knollenbildungen und Früchten! Hierin steckt ein reicher Mineralgehalt, hier sind Glucoside, Phosphatide, stickstoffhaltige Basen teils ringförmiger (Purin, Pyrimidin, Urazil) Atomgruppierung, aromatische Verbindungen[1]) und viele andere Stoffe vorhanden, von denen angenommen werden kann, ja geradezu angenommen werden muß, daß sie bei der Körpereiweißsynthese aus dem durch die Verdauung gegebenen Bausteinmaterial irgendwie eingreifen werden, — zumal da der Verdauungskanal der Pflanzenfresser hier vieles Schwerlösliche aufschließt!

Thomas selbst macht darauf aufmerksam, daß die biologische Wertigkeit der Stickstoffsubstanz des Brots sicher höher ist, als diejenige des Mehleiweißes, und glaubt, daß bei der Hefewirkung Weizeneiweiß in Hefeeiweiß umgewandelt werde. Versuche der amerikanischen Forscher, auf die ich später zurückkommen werde, sprechen dafür, daß, unter sonst gleichen Umständen, die Stickstoffbilanz bei Ernährung mit ausschließlich isolierten Pflanzeneiweißkörpern (Glutenin, Gliadin, Zein, Hordein), die auch bei größeren Mengen doch negativ bleibt, durch Zusatz von Mineralsalzen verbessert werden kann.

Ich habe es mir zur Aufgabe gesetzt, zu untersuchen, inwieweit die bei isolierter Verfütterung gering befundene biologische Wertigkeit pflanzlicher Eiweißkörper durch Zusatz von Produkten der Pflanze, die bei der natürlichen Ernährung des Pflanzenfressers stets mit in Betracht kommen, beeinflußt, insbesondere verbessert wird; dabei wurde besonders beachtet, inwieweit nach der besonders untersuchten biologischen Wertigkeit der Stickstoffsubstanz des Zusatzes es sich bei der Verbesserung

---

[1]) Schon 1866 haben Meißner und Shepard in den Cuticularsubstanzen die Quelle der Benzoesäurekomponente bei der ständigen bedeutenden Hippursäureausscheidung der Pflanzenfresser vermutet!

nur um Erreichung eines Durchschnitts oder eine weitergehende Einwirkung handelt. Dabei wurde natürlich der Ausnützung der betreffenden Nahrungsmittel sowie der Stickstoffbilanz gebührende Aufmerksamkeit geschenkt; insbesondere wurde mit Hinblick auf die am Menschen bzw. Fleischfresser (s. unten) anzustellenden Versuche und praktisch-wirtschaftliche Folgerungen aus ihren Ergebnissen, an Stelle der im Darmkanal des Pflanzenfressers stattfindenden „chemischen Aufschließung" die „mechanische Aufschließung" berücksichtigt, die neuerdings in der Ernährungstechnik mit Recht zunehmende Anwendung findet.

In der vorliegenden Mitteilung will ich dasjenige berichten, was ich bis jetzt als einigermaßen abgeschlossen ansehe. Weiteres wird später mitgeteilt werden, darunter auch bis jetzt noch spärliche Versuche am Menschen.

Die meisten bisherigen Versuche habe ich am Hunde angestellt, unter Berücksichtigung der üblichen technischen Einzelheiten. Die Abgrenzung des Kotes, soweit sie nicht durch die Verwendung langer Versuchsperioden überflüssig gemacht wurde, erfolgte mit Kohle.

Im allgemeinen wurde nach im Beginn vorausgeschickten Hungertagen und Entfernung angesammelten Kotes durch Klistier und Abführmittel je eine Fütterungs- oder besser gesagt N-haltige Zulageperiode immer eingeschaltet zwischen zwei Perioden mit N-freier Fütterung. Diese erfolgte mit einem Stärke-Schmalz-(oder Öl-)Zuckerbrei mit oder ohne Salzzusatz. Wenn auch die betreffende Ration im Laufe längerer Serien mit beginnendem Widerwillen des Tieres nicht immer vollständig aufgefressen wurde (bei der N-haltigen Zulage war immer dafür gesorgt, daß dies geschah) und wenn in gleichem Falle auch die Ausnützung nachließ, insbesondere ein Teil der Stärke mit dem Kote abging, so war doch immer für genügende Calorienzufuhr gesorgt, — die Grundbedingung, um den Eintritt des resorbierten für durch Abnutzung verlorenen Stickstoff annehmen zu dürfen.

In einigen orientierenden Vorversuchen sollte die biologische Wertigkeit des isolierten Weizeneiweißes (als Glidine oder Lecithineiweiß Dr. Klopfer wie bei Michaud) mit derjenigen der Stickstoffsubstanz von weißem, aus reinem Weizenmehl bereiteten Brot, sowie mit derjenigen von Rindfleisch verglichen werden.

1.

Nach längerem Hunger erhielt der Hund vom 20. bis 24. XI. 1913 täglich 200 g Stärke und 50 g Öl und schied im Mittel dieser Tage, während er von 12,85 auf 12,7 kg Körpergewicht abnahm, täglich 2,22 g N im Harn aus. Er bekam dann während dreier Tage eine Zulage von 200 g Weißbrot mit 2,0 g N täglich und schied, während sein Körpergewicht sich auf 12,65 kg konstant hielt, im Mittel[1]) dieser Tage 2,97 g N im Harn aus, dazu 0,16 g im Kot. Die Bilanz betrug somit 2,0 — (2,97 + 0,16) = — 1,13 g. In weiteren 2 Tagen N-freier Kost wie oben schied das Tier, während sein Körpergewicht auf 12,33 kg zurückging, im Mittel 1,9 g N im Harn aus. Nehmen wir als Mittel der N-Ausscheidung bei N-freier Kost 2,06 g an, so stellt sich die biologische Wertigkeit nach der ersten Formel (siehe oben S. 230) zu:

$$100 \cdot \frac{2{,}06 - 1{,}13}{2{,}0} = 46{,}5\,\%$$

und nach der zweiten zu:

$$100 \cdot \frac{2{,}06 + 0{,}16 - 1{,}13}{2{,}0} = 50{,}45\,\%.$$

Hierauf erhielt der Hund 3 Tage lang eine Zulage von 14 g Lecithineiweiß (Glidine) mit 2,0 g Stickstoff und schied, während sein Körpergewicht weiter auf 12,52 kg sank, im Mittel dieser Tage 3,05 g N im Harn und 0,16 g N im Kot aus. Die Bilanz betrug somit — 1,21 g. In weiteren 2 Tagen mit N-freier Kost betrug die mittlere N-Ausscheidung im Harn 2,0 g, so daß wir als Mittel 1,95 g einsetzen wollen und die biologische Wertigkeit sich berechnet nach der ersten Formel zu:

$$100 \cdot \frac{1{,}95 - 1{,}21}{2{,}0} = 37\,\%$$

und nach der zweiten zu:

$$100 \cdot \frac{1{,}95 + 0{,}16 - 1{,}21}{2{,}0} = 40\,\%.$$

Vom 9. I. 1914 ab wurde demselben Tier, dessen Gewicht durch eine zu anderen Zwecken durchgeführte Hungerperiode auf 10,8 kg gefallen war, durch 6 Tage wieder wie oben

[1]) Bei geringer Veränderung.

N-freie Kost gegeben; das Mittel der N-Ausscheidung im Harn für die letzten 3 Tage [1]) betrug 3,19 g. Darauf erhielt es 4 Tage lang etwa 60 g Fleisch mit 2,4 g Stickstoff täglich und schied, während das inzwischen auf 10,5 kg weiter gefallene Körpergewicht annähernd konstant blieb, im Mittel der beiden letzten Tage dieser Zulageperiode [2]) 2,93 g N aus im Harn, dazu im Kot 0,1 g, so daß die (immer noch negative) Bilanz — 0,63 g betrug. Im Mittel von 3 Tagen stickstofffreier Nachperiode wurden im Harn täglich 3,30 g N ausgeschieden, so daß wir als N-freie mittlere Ausscheidung 3,24 g ansetzen dürfen. Die biologische Wertigkeit des Fleischeiweißes ergibt sich so nach der ersten Formel zu:

$$100 \cdot \frac{3,24 - 0,63}{2,4} = 108,7\,\%$$

und nach der zweiten zu:

$$100 \cdot \frac{3,24 + 0,10 - 0,63}{2,4} = 112,2\,\%.$$

In dieser Serie bestätigt es sich also, daß die Wertigkeit des Getreideeiweißes im Brot etwas höher ist als in isoliertem Zustande.

2.

In weiteren Reihen wurde auch der isolierte alkohollösliche Anteil des Weizeneiweißes, das Gliadin, auf seine Wertigkeit untersucht.

Der Hund, nach nur kurzer Hungerperiode am 8. IV. 1914 auf einem Körpergewicht von 13,1 kg, schied in den letzten 4 Tagen einer 11tägigen Periode N-freier Fütterung, während der er bis auf 12,0 kg abnahm, durchschnittlich [2]) 1,9 g Stickstoff im Harn aus; er erhielt dann 4 Tage lang je 30 g Gliadin mit 4,2 g Stickstoff zugelegt und schied im Mittel derselben [2]) täglich 4,22 g N im Harn und 0,34 g N im Kot aus, so daß die Bilanz — 0,36 g betrug. In weiteren 3 Tagen stickstofffreier Fütterung betrug die N-Ausscheidung im Harn im Mittel 2,16 g, so daß wir als allgemeines Mittel der Stickstoffausscheidung bei N-freier Kost 2,03 g ansetzen können.

---

[1]) Nur der erste Tag wich stark ab.

[2]) Bei sehr geringen Schwankungen.

Die biologische Wertigkeit ergibt sich nach der ersten Formel zu:

$$100 \cdot \frac{2,03 - 0,36}{4,2} = 39,7\,\%$$

und nach der zweiten Formel zu:

$$100 \cdot \frac{2,03 + 0,34 - 0,36}{4,2} = 47,9\,\%.$$

Die Zahlen unterscheiden sich wenig von denjenigen für das „Glidine" (Lecithineiweiß), und dasselbe gilt, wie hier kurz bemerkt sei, auch für den alkoholunlöslichen Anteil dieses (lecithinfrei gemachten) Präparats, das Glutenin.

Ganz anders verhält sich die Stickstoffsubstanz eines reinen Blattgemüses, des Spinats. Nachdem dies schon für den Versuch von Thomas erhellt, der ihn als solchen in größeren Mengen genoß und schlecht ausnützte, hielt ich es für zweckmäßig, einen Versuch anzustellen mit mechanisch aufgeschlossenem Spinat, in Gestalt von Spinat-Trockenpulver größter Feinheit [1]), das nach dem Friedenthalschen Verfahren durch Behandlung in Kugelmühlen erhalten ist und nachgewiesenermaßen gut ausgenützt wird.

Das Tier, das nach längerer Ruhe und abundanterer Fütterung vom 7. VI. 1914 ab 7 Tage lang stickstofffrei gefüttert wurde und während dieser Zeit von 15,0 auf 13,6 kg Körpergewicht herabging, schied im Durchschnitt der letzten 3 Tage täglich 2,11 g Stickstoff im Harn aus. Es erhielt dann 5 Tage lang eine Zulage von 100 g Spinatpulver mit 4 g Stickstoff täglich, nahm dabei weiter auf 13,3 kg ab und schied in dieser Zeit im Mittel täglich 3,06 g Stickstoff im Harn + 0,36 g Stickstoff im Kot aus; die Bilanz war also + 0,58 g; in weiteren 3 Tagen N-freier Fütterung wurden durchschnittlich 1,88 g N im Harn ausgeschieden. Als Mittel der N-Ausscheidung bei N-freier Fütterung in diesem Versuch wollen wir hier 2,11 g ansetzen, und es berechnet sich die biologische Wertigkeit der Stickstoffsubstanz des Spinatpulvers nach der ersten Formel zu:

$$100 \cdot \frac{2,11 + 0,58}{4,0} = 67,2\,\%$$

---

[1]) Von Töpfer in Böhlen bei Rötha, Sachsen.

und nach der zweiten Formel zu:

$$100 \cdot \frac{2,11 + 0,36 + 0,58}{4,0} = 76,0\,\%.$$

In einem anderen entsprechend ausgeführten Versuch, in dem freilich an einem Tage Harn verloren gegangen war, berechnete sich die Wertigkeit sogar zu 85 % resp. 97 %. Es kann nach diesen wie nach den Thomasschen Versuchen also kein Zweifel bestehen, daß sie recht hoch ist.

Ich habe nun versucht zu ermitteln, ob und wie die berechnete biologische Wertigkeit des Gliadins, die ja unzweifelhaft niedrig ist, wenn nur dieses zu einer stickstofffreien Kost hinzugefügt wird, beeinflußt wird durch einen geringen Zusatz von Spinatpulver.

Das Tier, das nach einer Hungerperiode 11,1 kg wog, erhielt vom 23. bis 25. XII. 14 N-freie Kost und schied im Mittel dieser Tage 3,09 g N im Harn aus. Es erhielt dann 5 Tage lang die allerdings verhältnismäßig geringe Zulage von 15 g Gliadin + 1 einzigen Gramm Spinatpulver mit 2,4 + 0,04 g Stickstoff und schied in dieser Zeit täglich 4,15 g N im Harn und 0,25 g im Kot aus; die Bilanz betrug also — 1,96 g. Im Mittel zweier weiterer stickstofffreier Tage wurden 3,08 g N im Harn ausgeschieden. Die biologische Wertigkeit der aufgenommenen Stickstoffsubstanzen berechnet sich nach der ersten Formel zu:

$$100 \cdot \frac{3,09 - 1,96}{2,44} = 47,1\,\%$$

und nach der zweiten Formel zu:

$$100 \cdot \frac{3,09 + 0,25 - 1,96}{2,44} = 54,8\,\%.$$

Verglichen mit den oben für Zulage von Gliadin allein gefundenen Zahlen bedeutet das ohne Zweifel eine Verbesserung der Verwertung, die durch den absoluten Anteil des Spinatstickstoffs offenbar allein nicht erklärt werden kann, sondern in seiner chemischen Bindung oder aber in anderen, N-freien Bestandteilen des Spinatpulvers begründet sein muß, welche die Verwertung der Gliadinbausteine zur Synthese von Körpereiweiß verbessern helfen.

Einen ähnlichen Versuch über die Wirkung eines geringfügigen Zusatzes des Spinatpulvers habe ich im Anschluß an

einige Versuche gemacht, die der Bestimmung der biologischen Wertigkeit eines Leguminoseneiweißproduktes galten. In der einzigen Bestimmung für Erbsen findet Thomas hier den nicht gar zu niedrigen Wert 55,73. Es handelt sich dabei um geschälte Erbsen, nicht etwa ein isoliertes Erbseneiweiß. In meinen Versuchen hatte ich es mit sehr eiweißreichen Fabrikaten aus der Sojabohne zu tun, bei denen ich annehmen durfte, daß mit der Entfernung von möglichst viel Kohlenhydrat auch Verarmung an Rindenschichten und Hülsensubstanzen erfolgt war, es sich also um dem isolierten Weizeneiweiß nahestehendes Material, wenn auch ganz anderer Provenienz, handelte. In diesen Versuchen, auf die erst später gelegentlich ausführlicher eingegangen werden wird, erhielt ich als Mittelwert der biologischen Wertigkeit 32,6 %. Dieselbe wurde durch Vermischung von 5 bis 10 g Spinatpulver auf 35 g des Eiweißpräparates auf 59,4 % gesteigert!

Um weiterhin die Möglichkeit, daß die „Verbesserung der Verwertung" doch wesentlich nur von der Beimischung eines an sich höherwertigen Eiweißkörpers herrühre, die bei der natürlichen Schwankungsbreite und Relativität der „Wertigkeitskoeffizienten" eben sehr schwer ganz zu widerlegen sein wird, auszuschließen, habe ich einen Versuch angestellt, in dem einem Weizeneiweißpräparat von niedriger biologischer Wertigkeit im isolierten Zustande ein sehr eiweißarmes, aber an Cellulose und „Cuticularsubstanzen" möglichst reiches Präparat beigemischt wurde, nämlich durch Behandlung in der Kugelmühle mechanisch möglichst gut aufgeschlossenes, ein feines Pulver darstellendes Haferstroh. Sein Stickstoffgehalt betrug nur 0,96 %.

Der Hund, dessen Gewicht durch mehrtägiges Hungern von 15 kg auf 13,2 kg gefallen war, erhielt 4 Tage lang stickstofffreie Nahrung und schied im Mittel derselben 2,43 g Stickstoff im Harn aus. Er erhielt dann 6 Tage lang (vom 7. bis 12. VII. 14) je 35 g Glidine (Lecithineiweiß), dessen isolierte Wertigkeit oben zu 37 bis 40 % ermittelt ist, mit 4,9 g N, vermischt mit 10 g des Haferstrohmehls, die noch 0,01 g N darstellen, zusammen also 5,0 g. Er schied in dieser Zeit im Mittel 3,95 g N im Harn und 0,35 g N im Kot täglich aus, so daß die Bilanz + 0,7 g beträgt. In zwei weiteren N-freien

Tagen wurden je 2,14 g Stickstoff ausgeschieden, so daß 2,28 g N als mittlere N-Ausscheidung im Harn bei N-freier Kost gelten können. Die biologische Wertigkeit der Stickstoffsubstanz des Gemisches berechnet sich nach der ersten Formel zu:

$$100 \cdot \frac{2,28 + 0,7}{5,0} = 59,6\,\%,$$

nach der zweiten Formel zu:

$$100 \cdot \frac{2,28 + 0,35 + 0,7}{5,0} = 66,6\,\%.$$

Die biologische Wertigkeit ist also durch den Zusatz ganz eklatant gesteigert.

Die bisher berichteten Ergebnisse zeigen manche Einzelheiten, die eine gesonderte Besprechung verdienen. Zunächst mag die Verschiedenheit der ausgeschiedenen Stickstoffmengen bei N-freier Kost zu Bemängelungen Veranlassung geben. Sie hängen offenbar mit nicht ganz gleichmäßigen Ernährungszuständen des Stoffwechselhundes zusammen, der dazwischen auch zu andersartigen Versuchen benutzt wurde. In abgemagertem Zustande desselben erschien die Abnutzungsquote vielfach größer, als nach einer Pause mit mehr fett- als N-reicher Kost. Einen irreführenden Einfluß vermag ich diesen Unterschieden aber ebensowenig zuzuerkennen, wie dem Umstande, daß die als Zulage zur N-freien Kost verfütterte Menge Eiweiß nicht immer der Abnutzungsquote entsprach. Auch von den anderen Autoren sind mehrfach größere oder kleinere N-Rationen verfüttert worden: dementsprechend ändert sich eben die als wichtiger Posten in die Berechnung der biologischen Wertigkeit eintretende N-Bilanz.

3.

Die Stickstoffbilanz ist bei den isoliert verfütterten Pflanzeneiweißstoffen (außer Spinat) negativ, freilich auch bei dem hier angeführten Versuch mit Fleischzulage, die eben klein und an sich ungenügend war, um positive Bilanz zu ermöglichen. In anderen Versuchen, in denen der als Fleisch eingeführte Stickstoff die Abnutzungsquote überstieg, war die N-Bilanz positiv. In ihren zahlreichen Versuchen über die Abnützung von Pflanzeneiweißstoffen bekamen L. B. Mendel und M. S. Fine[1]) bei Getreideeiweißstoffen,

[1]) Journ. of Biolog. Chem. 10, 303, 339, 519, 1911.

auch wenn sie große Mengen verfütterten, immer nur negative Stickstoffbilanzen, positive gelegentlich mit Leguminoseneiweiß. Versuche in der Richtung, ob Zusatz von Mineralsalzen das Auftreten positiver N-Bilanz begünstigt, schienen in diesem Sinne zu sprechen. Auch ich habe in einer Reihe von Versuchen, bei denen außer dem Gliadin auch besonders der alkoholunlösliche Anteil des Weizeneiweißes, das Glutenin, berücksichtigt wurde, gefunden, daß durch Zusatz einer (der Ringerschen oder Tyrodeschen Lösung entsprechenden, als Hauptbestandteil Kochsalz führenden) Salzmischung zum Eiweißpräparat die Höhe der negativen Bilanz stark herabging. Aber die Fähigkeit, aus isolierten „minderwertigen" Pflanzeneiweißstoffen die genügend vollständige Synthese von Körpereiweiß zu ermöglichen, scheint den Mineralsalzen allein doch nicht zuzukommen: Um so auffallender ist in den berichteten Versuchen die positive N-Bilanz mit Spinatpulver sowie in dem Versuch, in dem Weizeneiweiß mit Haferstrohmehl gemischt verfüttert wurde. Es muß hiermit im Zusammenhang auch auf die zahlreichen von Hindhede mitgeteilten Erfahrungen am Menschen[1]) hingewiesen werden, aus denen hervorgeht, daß bei reiner Brotkost, bei reiner Kartoffelkost, besonders gut bei Brot-Fruchtkost sehr wohl Stickstoffgleichgewicht, ja bei besonders dazu geeigneten Individuen dauerndes Wohlbefinden und hohe Arbeitsfähigkeit bei einem auffällig niedrigen Stickstoffumsatz (4 bis 5 g) erreicht werden kann. Diese Zahlen, auf deren gewiß nicht allgemeingültige und nicht ohne weiteres auf die Volkswirtschaft übertragbare Bedeutung hier nicht eingegangen werden kann, beweisen offenbar, daß die Pflanzeneiweißstoffe „biologisch vollwertig" werden, sobald ihnen andere Stoffe, die qualitativ richtig ausgewählt sein müssen, aber quantitativ sehr zurücktreten können, beigemischt sind. Unsere Kenntnisse vom Mechanismus der synthetischen Polymerisation der Bausteine des Eiweiß (ebenso übrigens auch der Polysaccharide!!) stecken zu sehr in Anfängen und Vermutungen, um hier auf bestimmte Aminosäuren, auf bestimmte zyklische Atomkomplexe jetzt schon raten zu dürfen. Darum kann es auch nur die Bedeutung einer relativen Vollständig-

[1]) Arch. f. klin. Med. 111, 366, 1913; Skand. Arch. f. Physiol. 30, 97, 1913.

keit bei der Diskussion der Faktoren haben, wenn hier der in den Randzonen und Hüllen der Zerealien enthaltenen hypothetischen Stoffe („Vitamine", Cas. Funk) gedacht wird, auf deren Fehlen (nicht ohne Widerspruch) gewisse Erkrankungen, wie Beri-Beri und experimentelle Polyneuritis nach ausschließlicher Ernährung mit geschältem Reis, zurückgeführt worden sind. Auffällig ist die hohe von Thomas für die biologische Wertigkeit von Reis gefundene Ziffer. Es ist nicht gesagt, ob das verwendete Reismehl aus geschältem resp. „poliertem" Reis stammte.

Etwas mehr Klarheit kann nur geschaffen werden durch viele weitere systematische Versuche mit Verfütterung in ihrem Aufbau gut bekannter Pflanzeneiweißstoffe mit chemisch wohldefinierten Zusätzen, wie im Molekül offenbar in zu geringen Mengen vorhandener Aminosäuren, — aber auch pflanzlichen „Extraktivstoffen", vor allem von zyklischem Aufbau. Auch muß die Untersuchung der biologischen Wertigkeit auf möglichst viele und möglichst gut isolierte Eiweißkörper ausgedehnt werden. Solche Versuche habe ich, soweit es die äußeren Umstände gestatten, bereits unternommen und werde von deren Ergebnissen, insoweit sie neue Einblicke gestatten, hier seinerzeit Mitteilung machen.

Für die praktische Bedeutung dieser Aufgaben kommt natürlich, wie schon Thomas betont, ein Punkt außerordentlich in Betracht, und das ist die Ausnützung der Stickstoffsubstanzen bei der Verdauung und Resorption im Darmkanal.

Bei den bisher berichteten Versuchen mit Pflanzeneiweißstoffen bzw. solche enthaltenden Produkten, die durchweg als weitgehend „aufgeschlossen" angesehen werden können, ist die Ausnützung durchweg sehr gut. Ein Blick auf die Kotstickstoffzahlen und ihr Verhältnis zu den eingeführten Stickstoffmengen lehrt, daß die Ausnützung 90 % und darüber beträgt, ganz so wie dies von den amerikanischen Autoren auch seinerzeit gefunden worden ist. Dasselbe gilt für die Stickstoffsubstanz des aus feinstem Weizenmehl hergestellten Weizenbrotes, in dem in Cellulosehüllen eingeschlossene Kleberzellen der Randschichten des Korns gar nicht enthalten sind. Anders in kleienhaltigen Broten, wie sie augenblicklich bei der zum Zwecke der Streckung unserer Getreidevorräte gebotenen stärkeren Aus-

mahlung allgemeiner als sonst genossen werden. Hier ist daran zu denken, daß Substanzen der „Kleie“ resp. Randzone des Getreidekorns, die vielleicht gerade für die Synthese von Körpereiweiß wichtig sind, unausgenützt in den Kot gehen und so die „biologische Wertigkeit“ des Getreidestickstoffs herabgesetzt wird. Um in dieser Richtung wenigstens einen Versuch anzustellen, habe ich mir in der Kugelmühle durch feine Zermahlung hergestelltes Pulver aus Weizenkleie bereiten lassen und dieses einerseits, gewöhnliche Weizenkleie andererseits als alleinige N-haltige Nahrung auf ihre biologische Wertigkeit untersucht. Freilich konnten nur Mengen in Betracht kommen, deren Stickstoffgehalt im Verhältnis zur Abnutzungsquote klein, also an sich ungenügend war; ferner hatte das Kleienpulver einen geringeren N- und höheren Rohfasergehalt als die gewöhnliche Kleie, da offenbar gerade sehr N-reiche Schichten der Zerkleinerung am meisten widerstanden hatten und durch Absieben entfernt worden waren. Die Versuche verliefen folgendermaßen:

Die tägliche Stickstoffausscheidung bei N-freier Kost war bei dem durch eine Hungerperiode stark entfetteten Tiere 3,03 g täglich (im Mittel einer Anfangs-, Zwischen- und Endperiode von je mehreren Tagen). Als Zulage zur N-freien Kost gereicht wurden vom 8. bis 10. VIII. 1914 je 50 g des Kleienpulvers mit 0,77 g Stickstoff. Es wurde im Durchschnitt dieser Tage 2,68 g Stickstoff im Harn ausgeschieden, ferner 0,41 g N mehr im Kot als im Kot bei N-freier Nahrung, wobei hier der N besonders bestimmt wurde, da ein größerer N-Verlust von vornherein zu erwarten war. Die Bilanz beträgt also nicht weniger als — 2,32 g und die biologische Wertigkeit nach der zweiten Formel würde sich berechnen zu:

$$100 \cdot \frac{3{,}03 + 0{,}41 - 2{,}32}{0{,}77} = 145\,\%,$$

eine Ziffer, die bei der offenbaren Größe der Fehlerquellen uns hier nur soviel sagen darf, daß der Stickstoff der zerkleinerten Kleie, soweit er resorbiert worden ist, zum Aufbau von Körpereiweiß sehr gut verwertet wird.

In den Tagen vom 13. bis 15. VIII. 1914 erhielt das Tier als Zulage 35 g der gewöhnlichen Kleie mit im ganzen 0,81 g

Stickstoff. Es schied dabei 3,24 g Stickstoff täglich aus im Harn, dazu im Kot 0,7 g mehr als bei stickstofffreier Kost, mithin den größten Teil des in der Kleie enthaltenen Stickstoffs in unausgenütztem Zustande, und die Bilanz betrug — 3,13 g. Die Berechnung der Wertigkeit würde 75 % ergeben, also weniger als bei der aufgeschlossenen Kleie — wenn anders unter diesen Verhältnissen eine solche Berechnung ohne gar zu gewaltige Fehlerbreite erlaubt ist. Mit oder ohne Beachtung dieses Ergebnisses wird man aber angesichts des hohen Werts des Kleienstickstoffs der Herstellung eines Brotes, das diesen in aufgeschlossenem Zustande enthält, also eines sog. Vollkornbrotes dringend das Wort reden müssen.

Sollen die Schlüsse, die ich aus dem bisher mitgeteilten jetzt schon ziehen zu können glaube, nochmals kurz zusammengefaßt werden, so gehen sie dahin, daß bei rationeller Ernährung mit pflanzlichem Material, wie sie in der Natur beim pflanzenfressenden Tier offenbar realisiert ist, die aus dem Bausteinmaterial im Vergleich zum tierischen Eiweiß resultierende „Minderwertigkeit“ in Wirklichkeit durchaus nicht zu bestehen braucht, indem Bestandteile der Randschichten und Cuticularbildungen der Pflanzenteile ergänzend eintreten und in noch näher zu erforschender Weise die abfallfreie Synthese ermöglichen.

Biochemische Untersuchung der Rübenschwanzfäule der Zuckerrübe.

Von

J. Bodnár.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kgl. Ungar. Pflanzenphysiologischen und Phytopathologischen Institutes in Budapest.)

(Eingegangen am 9. Februar 1915.)

Im Herbste des Jahres 1913 kamen solche Zuckerrüben an unser Institut, an denen man jene Krankheit der Zuckerrübe wahrnehmen konnte, die man Rübenschwanzfäule oder, nach ihren angeblichen Krankheitserregern, auch Bakteriose zu nennen pflegt. Bei biochemischer Untersuchung dieser kranken Rüben gelangte ich zu einigen derartigen Resultaten, welche die Richtung der in größerem Maßstabe vorzunehmenden Untersuchungen deutlich vorzeichnen.

Das Auftreten der Rübenschwanzfäule ist auf den Rübenfeldern gegen Ende Juli oder noch später wahrnehmbar; in der Regel pflegt sie nicht das ganze Rübenfeld anzugreifen, sondern macht sich nur in Flecken bemerkbar. Das Erkennen der Krankheit kann mit vollster Sicherheit nur an der aus der Erde gezogenen Rübenwurzel erfolgen. Der unterste Teil der mit Rübenschwanzfäulnis behafteten Zuckerrübe ist braunschwarz abgestorben, die ganze Rübe selbst verdorrt, das Äußere ist runzlig, und wenn wir sie entzweibrechen wollen, bemerken wir, daß dieselbe sich eher biegt als bricht. Die Krankheit breitet sich von unten nach oben fort und kann ganz bis zur Mitte der Wurzel, eventuell auch noch höher hinaufgelangen; den Kopf selbst aber greift sie nur in ganz seltenen Fällen an. Wenn wir eine solche kranke Rübe entzweischneiden, so sehen wir, daß das Innere des unteren abgestorbenen Teiles grauschwarz ist, speckig aussieht und aus demselben ein dunkler

Saft heraussickert; der auf dem gesund scheinenden Teile gemachte Querschnitt verdunkelt sich beim Stehen an der Luft, und aus den durchschnittenen Gefäßbündeln sickert in feinen Tropfen eine dunkle und rasch schwarz werdende Flüssigkeit hervor.

In kranken Teilen der rübenschwanzfaulen Zuckerrübe sind Bakterien immer in großer Zahl vorfindlich. W. Busse[1]), Linhart[2]), Frank[3]) halten gewisse Bakterien für Krankheitserreger dieser Krankheit. Nach Busse soll der Bacillus Betae und dessen β-Varianten die Rübenschwanzfäule verursachen, und es soll ihm auch gelungen sein, durch Einimpfen der Bakterien diese Krankheit an gesunden Rüben hervorzurufen. Sorauer[4]) hat die Experimente Busses wiederholt, aber mit negativem Resultate. Linhart fand an kranken Rübensamen verschiedene solche Bakterien, die seiner Ansicht nach in rübenschwanzfäulekranken Rüben ebenfalls vorzufinden sind. Unter diesen erwähnt er den „Bacillus Mycoides" als solchen, der fähig wäre, die Rübenschwanzfäule hervorzurufen. Stift[5]) ist es gelungen, an gesunden und sterilisierten Rübenschnitten — mit Teilchen von rübenschwanzfäulekranken Rüben — eine der Bakteriose ähnliche Krankheit hervorzurufen.

Hinsichtlich der Entstehung der Krankheit ist Sorauer[6]) der Ansicht, daß wir es hier mit einer — mit dem Auftreten von Bakterien begleiteten — Krankheit der Rübe zu tun haben, die an die individuelle Disposition gebunden sei; in solcher Rübe, deren Widerstandsfähigkeit aus irgendeinem Grunde abgenommen hat, vermehren sich die nachträglich hineingeratenen Bakterien rasch und vernichten den in der Entwicklung behinderten Organismus ganz.

Bezüglich der chemischen Zusammensetzung der an Rübenschwanzfäule leidenden Zuckerrübe finden wir in der Literatur folgende Analyse.

Herzfeld[7]) analysierte parallel gesunde und an Rübenschwanzfäule erkrankte Rüben mit nachstehendem Ergebnis:

---

[1]) Busse, Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 7, 65 und 149, 1897.

[2]) Linhart, Österreichisch-Ungarische Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtschaft 28, 15 und 145, 1899. Das verkürzte Zeichen dieser Zeitschrift wird folgendes sein: Ö.-U. Zeitschr. f. Zuckerind.

[3]) Frank, Kampfbuch gegen die Schädlinge unserer Feldfrüchte 1897, S. 144.

[4]) Sorauer, Ö.-U. Zeitschr. f. Zuckerind. 26, 376, 1897.

[5]) Stift, Ö.-U. Zeitschr. f. Zuckerind. 28, 618, 1899.

[6]) Stift, Die Krankheiten der Zuckerrübe 1900, S. 76.

[7]) Herzfeld, Ö.-U. Zeitschr. f. Zuckerind. 28. 612, 1899.

	März		April	
	gesunde	kranke	gesunde	kranke
	Rüben		Rüben	
Spezifisches Gewicht des Saftes . . .	1,0640	1,0741	1,05 (bei 18,5°)	1,0496
Asche im Saft . . .	0,44	0,51	0,73	0,91
Saftpolarisation . .	15,6	15,4	11,73	9,45
Invertzucker . . .	0,09	0,21	0,20	0,23
Alkoholische Digestion	—	—	11,62	9,35
Schnittflächen zeigen	—	—	saure Reaktion	schwachs.

Auf Grund dieser Daten sagt Sorauer folgendes: „Somit finden wir bei den kranken Rüben die schwächer saure Reaktion, einen höheren Aschengehalt, weniger Zucker und mehr Invertzucker, obgleich sich in den gesunden Rüben während der Aufbewahrung auch reichlich Invertzucker gebildet hat."

Stift[1]) hat vier rübenschwanzfaule Rüben analysiert und bekam die in der nachstehenden Tabelle angeführten Daten:

Tabelle I.

	Rübe I		Rübe II		Rübe III		Rübe IV	
	frisch %	in 100 Teilen sandfreier Trockensubstanz %	frisch %	in 100 Teilen sandfreier Trockensubstanz %	frisch %	in 100 Teilen sandfreier Trockensubstanz %	frisch %	in 100 Teilen sandfreier Trockensubstanz %
Wasser	86,83	—	75,10	—	50,62	—	63,06	—
Eiweiß	0,69	5,30	1,25	5,03	2,31	4,69	4,06	11,01
Nicht eiweißartige Stickstoffsubstanz . . .	0,06	0,46	0,19	0,77	1,63	3,31	1,32	3,58
Fett (Ätherextrakt) .	0,70	5,37	0,78	3,14	0,68	1,38	1,21	4,28
Rohrzucker (Alkoholextrakt. n. Scheibler)	0,40	3,07	1,40	5,64	12,40	25,17	1,30	3,52
Invertzucker	1,65	12,67	1,50	6,04	2,70	5,48	0,52	1,41
Stickstofffreie Extraktivstoffe	6,37	48,94	13,05	52,58	21,27	43,16	19,89	53,93
Rohfaser	1,50	11,52	4,06	16,36	4,29	8,71	4,27	11,58
Reinasche	1,65	12,67	2,59	10,44	3,99	8,10	4,31	11,69
Sand	0,15	—	0,08	—	0,11	—	0,06	—

Die mit I bezeichnete Rübe war nahezu ganz abgestorben, bei den mit II und IV bezeichneten Rüben zeigten sich die

[1]) Stift, Die Krankheiten der Zuckerrübe 1900, S. 76.

Symptome der Rübenschwanzfäule in starker und ungefähr gleichmäßiger Entwicklung, bei der mit III bezeichneten aber nur in geringem Maße. Aus den Daten der obigen Tabelle geht hervor, daß bei der Rübe III der Invertzuckergehalt der größte ist, trotzdem gerade das Gegenteil zu erwarten gewesen wäre, denn diese Rübe war — von den untersuchten vier Rüben — die am wenigsten kranke. Ich bemerke, daß die Rübe III, abgesehen von der mäßigeren Erkrankung, schon wegen ihres niedrigen Wassergehaltes (50,62 %) nicht als normal bezeichnet werden kann. Der Rohrzuckergehalt steht im Einklange mit der obenerwähnten Ansicht Sorauers, hinsichtlich der Asche aber sagt Stift[1]) folgendes: „Der Gehalt an Reinasche bietet ebenfalls keine auffälligen Zahlen, denn wer Gelegenheit gehabt hat, so wie wir, viele Hunderte von Rübenanalysen durchzuführen, weiß, in welchen bedeutenden Grenzen der Reinaschegehalt (und dies auch ganz natürlich) schwanken kann.“ Hinsichtlich der Zusammensetzung der Asche war bei allen vier Rüben der Aluminiumgehalt auffallend hoch (I 19,12 %, II 18,07 %, III 18,22 %, IV 9,96 %). Das Quantum des ätherischen Extraktes scheint sich bei Vorwärtsschreiten der Krankheit zu steigern. Aus den sonstigen Daten der Analyse ist laut Stift — hinsichtlich der Krankheit — keine besondere Regelmäßigkeit zu entnehmen.

Bei den von mir untersuchten Rüben hatte die Krankheit noch nicht überhandgenommen, erstreckte sich von unten gerechnet bis ungefähr zur Mitte des Rübenkörpers und der über derselben stehende Teil schien gesund zu sein; ich bemerke, daß sich unter denselben auch einige solche kranke Rüben befanden, bei denen gerade nur das äußerste Ende der Wurzel angegriffen war.

Bei meinen Untersuchungen habe ich parallel mit den kranken Rüben auch vom selben Orte stammende gesunde Rüben untersucht und die kranken und gesunden Teile der kranken Rüben — soweit dies das mir zur Verfügung stehende Quantum des Materials, ferner die Notwendigkeit der raschen Durchführung der einzelnen Bestimmungen zuließ — separat untersucht. Unter Beachtung dieses letzteren Punktes können wir erfahren, ob in dem von den Bakterien noch nicht

[1]) Stift, Ö.-U. Zeitschr. f. Zuckerind. 28, 614, 1899.

angegriffenen Teile der Rübe irgendwelche chemische Veränderungen eintraten, und wenn wir diese Krankheit nach der Theorie Sorauers auffassen, dann können wenigstens einige dieser Veränderungen die Folgen oder Anzeichen der verminderten Widerstandsfähigkeit sein.

Die zur Untersuchung gelangten Rüben wurden von dem ihnen außen anhaftenden Schmutz gereinigt und mit einer 0,5 %igen Sublimatlösung sterilisiert. Zu sämtlichen Bestimmungen wurden Proben von dem mit einer Suckowschen Rübenmühle zu einem feinen Brei gemahlenen und gut zusammengemischten Material genommen.

Die Resultate meiner Untersuchungen und die aus denselben ableitbaren Folgerungen gebe ich in nachstehendem bekannt.

Wassergehalt.

Zur Bestimmung des Wassergehaltes wurde der mit Meersand verriebene Rübenbrei in einem Wasserdampfschrank 24 Stunden hindurch getrocknet.

Tabelle II.

Nr.	Wassergehalt %	
	gesunde Rübe	kranke Rübe
1	78,2	72,8 [1])
2	74,6	71,2
3	74,9	71,1
4	74,7	74,8
5	78,9	73,6
6	73,8	—
7	74,2	—
8	75,8	—

Aus diesen Daten ist ersichtlich, daß in den untersuchten kranken Rüben der Wassergehalt — mit Ausnahme des Falles 4 — geringer ist, wie in den am selben Orte gezüchteten gesunden Rüben. Dieses Symptom kann — wenn dies auch zahlreichere Analysen beweisen werden — mit jener, die Bekämpfung dieser Krankheit betreffenden Beobachtung Sorauers [2]) vielleicht in Zusammenhang gebracht werden, wonach das Auf-

[1]) Nur das äußerste Ende der Wurzel war krank.

[2]) Stift, Die Krankheiten der Zuckerrübe 1900, S. 83.

treten der Rübenschwanzfäule in erster Reihe auf den Wassermangel zurückzuführen ist, und Sorauer hält die reichliche Versehung der Rübenfelder mit Wasser für das beste Schutzmittel zur Bekämpfung der Rübenschwanzfäule. Für diese Auffassung Sorauers spräche auch jene Erfahrungstatsache, daß die Rübenschwanzfäule dann in größerem Maßstabe auftritt, wenn die Sommerwitterung sehr trocken ist. Das fleckenweise, sowie bei nassem Wetter sporadische Auftreten der Krankheit aber scheint den Beweis dafür zu liefern, daß man wenigstens in gewissen Fällen außer dem Wassermangel eine in der Lebensfunktion der Rübe eintretende derartige Störung annehmen muß (diese kann eventuell dann eintreten, wenn die Bakterien sich schon in der Rübe befinden), die sich in der Abnahme der Wasseraufnahmefähigkeit oder in der gesteigerten Transpiration äußert.

Acidität.

Die Bestimmung der Acidität der Rübe wurde nach Strohmers[1]) Verfahren durchgeführt, mit der Abweichung, daß ich vorerst zu 100 ccm des alkoholischen Extraktes 300 ccm destilliertes Wasser hinzufügte und dann so lange mit $^{n}/_{10}$-KOH titrierte, bis die eintretende Rosafärbung ständig blieb. Mit dieser Modifizierung kann — in dem meistens farbigen alkoholischen Extrakte — die Beendigung der Titrierung genauer beobachtet werden; ich bemerke, daß die mit diesem modifizierten Verfahren erhaltenen Werte mit den Strohmerschen nicht übereinstimmen, sie können aber zum Vergleiche untereinander (gesunde und kranke Rübe) ganz gut benützt werden.

Tabelle III.

Nr.	$^{n}/_{10}$-KOH in ccm	
	gesunde Rübe	kranke Rübe
1	16,2	29,4
2	14,2	49,2
3	18,6	63,1
4	15,4	52,4
5	19,2	24,8
6	18,1	59,2
7	20,2	41,6

[1]) Strohmer, Ö.-U. Zeitschr. f. Zuckerind. **33**, 838, 1904.

Die Acidität ist — bezüglich eines Originalmaterials von 100 g — durch die Anzahl der Kubikzentimeter der verbrauchten Lauge ausgedrückt.

Die höhere Acidität der kranken Rüben kann viel eher mit den Lebenssymptomen der in der an Rübenschwanzfäule erkrankten Rübe vorhandenen Bakterien in Zusammenhang gebracht werden, als die von Herzfeld[1]) beobachtete schwächere saure Reaktion der kranken Rüben. Die durch Bakterien produzierten Enzyme lösen den Rohrzucker auf, dieser Prozeß ist mit Säureproduktion verbunden, und so wird die Acidität der kranken Rübe größer sein als jene der gesunden Rüben. Die in der Tabelle III befindliche Rübe Nr. 1 und 5 war am wenigsten krank, und die Acidität dieser steht — wie auf Grund des Gesagten auch zu erwarten stand — der bei den gesunden Rüben beobachteten Acidität nahe. Stift fand bei an Rübenschwanzfäule leidenden Rüben (siehe Tabelle I) das Quantum des ätherischen Extraktes auf die Trockensubstanz gerechnet, bei der allerkränksten Rübe 5,37 %, bei der allerwenigsten kranken 1,38 %. Die Menge des ätherischen Extrakts aus gesunden Rüben ist viel geringer, Strohmer und Stift[2]) fanden — die Veränderung der von der Luft abgeschlossenen Rübe untersuchend — bei 6 gesunden Rüben ein Maximum von 0,29 %. Es ist sehr wahrscheinlich, daß bei den an Rübenschwanzfäule leidenden Rüben die in denselben in größerer Menge vorhandenen und mit Äther auslösbaren organischen Säuren — wenigstens zum Teile — die Vermehrung des ätherischen Extraktes verursachen. Die gleichen Beobachtungen machten Strohmer und Stift bei ihren zum Zwecke des Studiums der oben erwähnten Frage durchgeführten Experimenten, bei welchen an den in Kohlensäure erhaltenen Rüben mit dem Auftreten des Bakteriums Leuconostoc mesenterioïdes die Menge des ätherischen Extrakts sich vermehrte (man fand im Maximum 2,76 % davon) und derselbe in jedem Falle saure Reaktion besaß. Stift[3]) fand den „gesamten“ Säuregehalt am größten — auf Trockensubstanz gerechnet — in der allerkränksten Rübe;

[1]) Herzfeld, l. c.

[2]) Strohmer und Stift, Ö.-U. Zeitschr. f. Zuckerind. 32, 913, 1903.

[3]) Stift, Ö.-U. Zeitschr. f. Zuckerind. 28, 613, 1899.

auf frische Substanz gerechnet hatte die am allerwenigsten kranke Rübe den größten Säuregehalt.

Rohrzucker, Invertzucker, Invertase.

Der Rohrzucker wurde durch alkoholische Extraktion, der Invertzucker nach Urban[1]) festgestellt.

Tabelle IV.

Nr.	Gesunde Rübe		Kranke Rübe	
	Rohrzucker %	Invertzucker %	Rohrzucker %	Invertzucker %
1	16,8	0,00	9,2	0,90
2	15,2	0,08	9,5	0,62
3	16,1	0,10	10,6	0,86
4	15,2	0,05	8,3	1,13
5	16,1	0,06	14,8	0,35
6	17,1	0,09	6,9	1,62
7	17,0	0,00	—	—
8	15,2	0,08	—	—

Der Rohrzuckergehalt kranker Rüben war in jedem der untersuchten Fälle geringer wie derjenige der gesunden. Die kranke Rübe Nr. 5 war von der Krankheit nur in sehr geringem Maße angegriffen und bei dieser kommt die Menge des Rohrzuckers dem bei gesunden Rüben beobachteten nahe. Gesunde Rüben enthalten gar keinen oder aber nur sehr wenig Invertzucker, demgegenüber ist in kranken Rüben Invertzucker in bedeutenderer Menge vorfindbar; in den am allerwenigsten kranken Rüben war der Invertzuckergehalt am geringsten.

In den gesunden und kranken Teilen von zwei kranken Rüben wurde auch abgesondert der Invertzucker festgestellt.

Invertzucker in % im gesunden Teile	im kranken Teile
0,61	2,82 (diese Rübe war die kränkste)
0,28	2,07

Diese Daten weisen darauf hin, daß auch der gesunde Teil der kranken Rübe in bedeutenderer Menge Invertzucker enthält.

In der kranken Rübe ist das Vorhandensein der Invertase ganz gut nachweisbar, und so entsteht der Invertzucker — wie

[1]) Urban, Zeitschr. f. Zuckerind. in Böhmen **34**, 287, 1910.

dies auch Sorauer annahm — auf fermentativem Wege aus dem Rohrzucker. Zum Nachweise der Invertase wurde fein gemahlener Rübenbrei mit der Buchnerschen Presse — unter 150 bis 200 Atmosphärendruck — ausgepreßt und in dem gewonnenen Safte die Invertase auf folgende Weise nachgewiesen: In 4 kleinen Kolben wurden 10—10 ccm Rübensaft und 30—30 ccm 20%ige Saccharoselösung hineingemessen und der Inhalt je zweier Kolben in einem Wasserbade 30 Minuten erwärmt. Nach Abkühlen der letzteren wurden zu jedem Kolben 0,5 ccm Chloroform gegeben und alle vier auf 24 Stunden in einen Thermostat von 30° eingelegt. Nach Verlauf dieser Zeit wurde der Inhalt der Kolben tropfenweise in einige Kubikzentimeter siedendes destilliertes Wasser gegossen und die reduzierende Fähigkeit der vier Lösungen (es wurde mit Bleiacetat geklärt) mit folgendem Resultate festgestellt[1]):

Tabelle V.

Die Zahlen der Bestimmungen	Gesunder Rübensaft		Kranker Rübensaft	
	aufgekocht	unaufgekocht	aufgekocht	unaufgekocht
	Cu in g			
1	0,0218	0,0206	0,4842	0,1657
2	0,0214	0,0211	0,4819	0,1662

In der gesunden Rübe ist, nachdem die Menge des bei den aufgekochten und unaufgekochten Proben ausgeschiedenen Kupfers gleichmäßig ist, keine Invertase vorhanden, bei der kranken Rübe spricht die zwischen beiden Werten bestehende Differenz für das Vorhandensein der Invertase. Aus kranken Rüben habe ich Invertase — das Verfahren Stoklasas[2]) befolgend — in festem Zustande hergestellt.

Nachdem auch in dem von Bakterien nicht angegriffenen gesunden Teile der kranken Rübe die Menge des Invertzuckers eine bedeutendere ist, versuchte ich auch im gesunden Teile die Invertase nachzuweisen.

Reduktionsfähigkeit des unaufgekochten Rübensaftes 0,0921 g Cu
" " aufgekochten " 0,0686 g Cu

[1]) Die Daten der Tabelle V beziehen sich auf 5 ccm originalen Rübensaft.

[2]) Stoklasa, Zeitschr. f. Zuckerind. in Böhmen 28, 285, 1903/04.

Nachdem zwischen den beiden Werten eine beträchtliche Differenz bemerkbar ist, folgt daraus, daß auch der von den Bakterien nicht angegriffene Teil der kranken Rübe Invertase enthält.

Asche.

Bei Bestimmung der Asche habe ich zur Verbrennung H_2O_2 angewendet. Die Resultate beziehen sich auf Trockensubstanz.

Tabelle VI.

Nr.	Asche %	
	gesunde Rübe	kranke Rübe
1	4,18	6,26
2	3,92	7,82
3	5,16	7,46 [1]
4	5,08	8,08
5	4,81	7,28 [1]
6	4,53	6,90

Die Daten dieser Tabelle zeigen, daß der Aschegehalt in den kranken Rüben in jedem Falle viel größer ist als in den gesunden.

Die separate Untersuchung von gesunden und kranken Teilen der kranken Rübe ergab nachstehende Resultate:

Asche in %	
gesunde Teile	kranke Teile
6,96	7,21
6,94	6,30

woraus folgt, daß der Aschegehalt der gesunden und kranken Rüben — abgesehen von den aus der ungleichmäßigen Verteilung im Rübenkörper herrührenden Unterschieden — gleichmäßig ist.

Interessant erschien — auf Grund der bereits erwähnten Beobachtung Stifts — die Bestimmung von Aluminium in der Asche der gesunden und kranken Rübe.

---

[1]) Nur das äußerste Ende der Wurzel war krank.

Tabelle VII.

Nr.	Al % in der Asche	
	gesunde Rübe	kranke Rübe
1	2,01	6,86
2	1,28	10,21
3	1,95	8,52[1])
4	1,42	—
5	2,57	—

Aus diesen Daten ist zu ersehen, daß die Asche der kranken Rübe — gegenüber jener der gesunden — durch den viel höheren Aluminiumgehalt charakterisiert wird; bei der kranken Rübe Nr. 3 konnte man die Krankheit eben nur am äußersten Ende der Wurzel beobachten und dennoch war die Menge des Aluminiums auch in der Asche dieser Rübe sehr hoch[2]).

In der Asche des gesunden Teiles einer kranken Rübe fand ich 7,79 %, in der Asche des kranken Teiles 9,43 % Aluminium.

In den Tabellen VI und VII bei den mit [1]) bezeichneten Rüben war eben nur das äußerste Ende krank, und dennoch sehen wir, daß auch bei diesen der Aluminiumgehalt so hoch ist wie bei den viel kränkeren Rüben. Dieser Umstand und auch jene Beobachtung, daß der Asche- und Aluminiumgehalt der gesunden und kranken Teile der kranken Rübe gleichmäßig ist, lassen darauf schließen, daß die Vermehrung der Menge der Asche und des Aluminiums in der kranken Rübe noch vor Eindringen der Bakterien in den Körper der Rübe erfolgt, und sonach könnte — wenn wir die Entstehung der Krankheit nach der bereits erwähnten Theorie Sorauers auffassen — der höhere Asche- und Aluminiumgehalt das Zeichen der verminderten Widerstandsfähigkeit der Rübe sein.

---

[1]) Nur das äußerste Ende der Wurzel war krank.

[2]) A. Wilhelmy (Zeitschr. des Vereins der deutsch. Zuckerind. 57, 433, 1907) beobachtete bei der chemischen Untersuchung der an „Beet Blight" (kalifornische Rübenkrankheit) leidenden Zuckerrübe, daß der Aschegehalt der gesunden Rübenwurzel (auf frische Substanz gerechnet) 0,96 %, derjenige der kranken Rüben 2,86 % war. Die prozentuale Menge einzelner Bestandteile der Asche (Kieselsäure, Phosphorsäure und Aluminium) der kranken Rüben viel größer ist als die bei gesunden Rüben. Wilhelmy fand in der Asche der Blätter der kranken Rüben 5,8 % Al, während in gesunden Blättern aber selbst Spuren von Al nicht nachgewiesen werden konnte.

In der kranken Rübe hält die Abnahme des Rohrzuckergehaltes, die Vermehrung des Invertzuckers und der Acidität — wie dies aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich ist — mit dem Fortschreiten der Krankheit Schritt, woraus hervorgeht, daß die Veränderung der Quantitätsverhältnisse der obigen Substanzen — im Gegensatze zu den anorganischen Verbindungen — nur dann eintritt, sobald die Bakterien schon in den Körper der Rübe hineingelangten und dort ihre, den Rohrzucker lösende Arbeit begonnen haben.

Tabelle VIII.

	Gesunde Rübe	Von der Krankheit in geringerem Maße angegriffene Rübe	Von der Krankheit in bedeutenderem Maße angegriffene Rübe
Rohrzucker . . .	17,20 %	14,80 %	8,30 %
Invertzucker . . .	0,08 %	0,35 %	1,13 %
Acidität	18,20 %	24,80 %	52,40 %

Über die Wirkung der intravenösen Infusion von Chlornatriumlösungen, Säuren und Alkalien auf den respiratorischen Stoffwechsel bei der Urethannarkose.

Von

J. C. Raeder.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 12. Februar 1915.)

Bei der Untersuchung der Wirkung eines Stoffes auf den respiratorischen Stoffwechsel ist es von entscheidender Bedeutung, daß das Versuchstier sich in allen übrigen Beziehungen vor, bei und nach dem Versuch unter denselben äußeren und inneren Verhältnissen befindet, und daß man ferner den Stoff in einer solchen Weise und in einer solchen Form in den Organismus einführt, daß störende Nebenwirkungen möglichst ausgeschlossen sind. Der Stoffwechsel muß konstant erhalten werden, und zwar am besten auf einem niedrigen Niveau, da dann die Abänderungen deutlicher hervortreten werden.

Bei Inanition wird die Steigerung der Verdauungstätigkeit, nämlich der Darmbewegungen, der Drüsensekretion und der Resorptionsarbeit vermieden, welche die Mahlzeiten bewirken würden.

Die parenterale Injektion eliminiert die Darmarbeit ganz, welche die Eingabe des Stoffes per os hervorrufen würde.

Muskelbewegungen können während des Versuches den Stoffwechsel ganz verändern und müssen durch die Narkose beseitigt werden.

Die gesteigerte Nieren- und Herztätigkeit, welche die zur Lösung und Einführung des Stoffes praktisch notwendige Flüssigkeitsmenge bewirken könnte, habe ich in diesen Versuchen durch permanente Infusion gleichmäßiger Mengen physiologischer NaCl-

Lösung vor der Infusion der zu prüfenden Lösung auszugleichen versucht, damit die Nieren dadurch möglichst in derselben steten und gleichmäßigen Sekretionstätigkeit erhalten blieben und das Herz fortwährend dieselbe Flüssigkeitsmenge in Arbeit hätte — während des Versuches wie vor demselben.

Schließlich muß die chemische Wärmeregulation außer Tätigkeit gesetzt und die Temperatur des Tieres durch Einbringung desselben in einen Thermostaten bei 29 bis 30° konstant erhalten werden.

Durch diese Maßregeln sucht man das Tier in ein „Standardtier" zu verwandeln mit bestimmtem und konstantem Stoffwechsel, dem nur während des Versuches selbst das Verbrennungsmaterial zugeführt wird, über dessen Wirkung man Bescheid wissen will.

Andererseits dürfen aber die am Versuchstier zwecks Umwandlung in den erwünschten Ideal-Organismus bewerkstelligten Eingriffe nicht derart sein, daß sie an und für sich den respiratorischen Stoffwechsel des Tieres noch dessen Vermögen, sich auf natürlichem Wege beeinflussen zu lassen, merkbar abändern.

Wie die Operation und Narkose natürlicherweise mit Umsicht auszuführen sind, so müssen auch die zu untersuchenden Stoffe in einer solchen Form und Konzentration eingeführt werden, daß der Versuch nicht durch Vergiftung, Hämolyse usw. vereitelt wird.

Nur die „unschädlichen" Mengen des Stoffes können dessen „natürliche" Wirkungen hervorrufen.

Um nun zu erfahren, ob das Tier tatsächlich zum Versuch brauchbar und der eingeführte Stoff unschädlich ist, sind erstens mehrere aufeinander folgende Respirationsproben vor dem Versuch absolut notwendig; demnächst muß man auch nach dem Versuch durch mehrere Proben feststellen, daß und wann der respiratorische Stoffwechsel zum ursprünglichen Niveau zurückgekehrt und das Tier wieder zu dem „Standardtier" geworden ist, das man sich herzustellen bemühte, worauf die Versuche fortgesetzt werden können.

Sind diese Bedingungen nicht erfüllt, ist der Stoffwechsel vor dem Versuch inkonstant, erwacht das Tier während des Versuches, hat es Krämpfe, so ist der Versuch als unbrauchbar zu kassieren.

Das Allgemeinbefinden muß in gebührender Weise berücksichtigt werden; Temperatur, Puls, Respiration, Diurese, Narkose usw., wenn der Versuch wirklich brauchbar sein soll.

Technik.

Zu den Versuchen wurden Kaninchen benutzt. Die Technik war wie folgt: Nach 1 tägiger Inanition werden durch eine Sonde ca. 2 g Urethan pro Kilogramm Kaninchen in den Ventrikel eingespritzt. Das Tier wird mit Watte zugedeckt, und wenn es narkotisiert worden ist (ca. $^1/_2$ Stunde später), werden in die Trachea, die Blase und die V. jugularis Kanülen eingeführt. Darauf wird das Tier bei 29 bis 30° in einen Thermostaten gebracht und die Trachealkanüle mit kleinen Glasrespirationsventilen mit Gummiklappen verbunden. Inspirationen von frischer Straßenluft, die dadurch kohlensäurefrei geworden ist, daß sie durch eine Flasche mit Bimstein passiert, der mit $10^0/_0$ NaOH getränkt ist; Exspirationen in eine ca. 5 Respirationen fassende Mischungsflasche — weiter bis zu einer Gasuhr von 1 Liter. Bevor die Gasuhr erreicht wird, geht von der Hauptleitung eine Capillarröhre zu einem Behälter ab, der mit Quecksilber gefüllt werden kann.

Mittels eines Metronoms, dessen Tempo einigermaßen der Respiration eines Kaninchens entspricht, wird ein elektrischer Strom geschlossen. Durch einen Zahnradmechanismus wird dabei das Quecksilber im Behälter um ein gewisses Stück gesenkt, und es wird somit bei jedem Stromschluß der Exspirationsröhre ein gleichgroßer Raumgehalt Luft entnommen.

Jeder Versuch (Probeentnahme) dauert in der Regel 15 Minuten. Zur Luftanalyse im Pettersonschen Apparat werden 25 bis 30 ccm entnommen.

Was den Einlauf der Flüssigkeit betrifft, ist die Technik die von Henriques und Andersen zur permanenten, parenteralen Injektion[1]) benutzte, nur benutzte ich keinen Tropfenapparat, sondern, um größere Regelmäßigkeit und Genauigkeit zu erzielen, Motor und Spritze.

An der Spritze (1 ccm Rekordspritze) brachte ich ein Bunsensches Ventil an, dessen Prinzip darin besteht, daß Flüssig-

[1]) Zeitschr. f. phys. Chem. 88, 5.

keit aus einer am Ende geschlossenen Gummiröhre, in deren Wandung ein Schlitz geschnitten ist, hinausgepreßt werden kann, während Flüssigkeit von außen nicht hineingepreßt werden kann. Derartige Gummischläuche werden an Glasröhren in einer größeren Glasröhre, den Respirationsventilen analog angebracht, so daß Flüssigkeit aus der Injektionsflasche mittels des Motors durch das eine Ventil in die Spritze hineingesogen, aber durch das andere Ventil aus dem Kaninchen hinausgepumpt wird. Am Einlaufschlauch zur V. jugularis des Kaninchens ist eine T-Röhre zum Messen (in einer Bürette) der Einlaufgeschwindigkeit angebracht. Der Einlauf in das Kaninchen wird hier durch eine Klemmschraube abgeschlossen. Ein großer Teil des Einlaufschlauches liegt im Thermostaten, damit die Einlaufflüssigkeit dessen Temperatur annehmen kann. Nach der Operation nimmt die Temperatur des Kaninchens trotz der Zudeckung mit Watte um ein paar Grad ab. Das Tier wird darauf im Thermostaten angebracht, und der Einlauf von physiologischer NaCl-Lösung (0,9 $^0/_0$) beginnt. Nach 3 bis 5 Stunden ist die Temperatur in der Regel wieder normal, und die Diurese kommt in Gang. Das Tier erhält dann noch ca. 1 g Urethan pro Kilogramm (subcutan) und schläft dann ununterbrochen die Nacht und den nächsten Tag hindurch.

Am Abend des 2. Tages ist es gewöhnlich zweckmäßig, wieder Urethan ($^1/_2$ bis 1 g pro Kilogramm) einzugeben.

Ob das Tier sich überhaupt nach einer solchen Dosis wieder beleben kann, habe ich nicht untersucht. Ein Kaninchen (Nr. 31), bei dem ich am 2. Tag die Infusion aufhören ließ, lebte 5 Tage lang im Thermostaten, ohne wieder so zum Bewußtsein zu kommen, daß es spontan eine Bewegung machte. Es wurde darauf getötet.

Wenn die permanente Injektion sicherlich auch die Giftigkeit des Urethans um ein Teil erniedrigt, ist es doch nicht geraten, sofort eine größere Dosis zu geben. Die erwähnte Dosierungsweise ergab sich mir nach verschiedenen mißratenen Versuchen als die zweckmäßigste.

Die Operationen fanden meist nachmittags statt, und die Versuche begannen erst ca. 20 Stunden später, am nächsten Vormittag, damit das Tier sich nach dem Operationschok erholen, normale und gleichmäßige Harnsekretion und Temperatur

annehmen und überhaupt den Stoffwechsel den neuen Verhältnissen anpassen könnte.

Dasselbe Kaninchen kann wiederum am nächsten Tage gebraucht werden, stirbt aber dann oft in der nächsten Nacht oder am nächsten Vormittag, ist jedenfalls am 3. Versuchstag nur ausnahmsweise zu Versuchen brauchbar.

Die Todesursache besteht wahrscheinlich in Urethan, Aufbinden, Respiration durch Ventile — außer der Injektion von NaCl und den zu untersuchenden Stoffen. Zuvörderst ist als häufigste Todesursache jedoch auf die Ansammlung von Schleim in der Trachealkanüle zu achten. Nachdem das Kaninchen einige Zeit lang etwas forcierte Respiration in Verbindung mit deutlichem Schleimröcheln in der Trachea aufgewiesen hat, wird das Respirationsvolumen und die Respirationsfrequenz plötzlich geringer, und das Kaninchen verendet wegen Verstopfung der Kanüle im Laufe von ganz kurzer Zeit bei fortwährend sinkender Respiration. Gelingt es nun schnell, den Schleimpfropfen hinaufzubringen oder die Trachealkanüle umzulegen, wird die Respiration wieder vollständig normal; doch kommt es nicht selten vor, daß die Respiration — wegen Reizung durch die Manipulationen in der Trachea — sehr beschleunigt wird, was bis zum nächsten Tag andauern kann (Kaninchen 23 und 25).

Durch diese Technik habe ich bei meinen Versuchen Resultate erzielt, die in vielen Beziehungen von früheren Untersuchungen abweichen, und ich habe die Momente durchforscht, die meines Erachtens für die Gewinnung konstanter und richtiger Resultate die größte Rolle spielen, um dadurch über den Grund dieser Abweichungen sowie über die tatsächliche Wirkung von NaCl auf den respiratorischen Stoffwechsel Klarheit zu gewinnen.

Versuche.

Die Versuchsreihe A (die Versuche I und II sowie XIa und XIIb) behandeln Versuche über die Wirkung des Urethans.

Um die NaCl-Wirkung auf den respiratorischen Stoffwechsel zu untersuchen, habe ich eine Reihe Versuche (B, die Versuche III bis VIII) angestellt, bei denen ich permanent eine dem Blut isotonische Lösung (0,9%ige NaCl-Lösung) in die V. jugularis einspritzte (Geschwindigkeit ca. 40 ccm pro Stunde).

Einige Stunden nach der Operation hat sich die Temperatur

gewöhnlich bis zur normalen Höhe gesteigert, und die Harnsekretion kommt in Gang. Ca. 20 Stunden später, wenn die Sekretion der Nieren regelmäßig, die Respiration natürlich, die Temperatur konstant und die Narkose fortwährend tief ist, werden nacheinander 2 bis 3 Respirationsversuche angestellt, damit man sich davon überzeugen kann, daß der Stoffwechsel konstant ist. Danach wird die Injektionsflüssigkeit gewechselt und 1,8, 3, 4,5 oder 9 %ige NaCl-Lösung injiziert (die nämliche Einlaufgeschwindigkeit). Es werden wieder im Laufe der 1 bis 2 Stunden, die die Injektion der stärkeren NaCl-Lösungen dauert, mehrere aufeinander folgende Respirationsversuche angestellt. Es wird nun wieder Injektionsflüssigkeit gewechselt, und zwar kehrt man zur physiologischen NaCl-Lösung zurück und entnimmt die folgenden Stunden hindurch Exspirationsproben.

In der nächsten Versuchsreihe (C, die Versuche IX bis XII) findet in den Vor- und Nachperioden kein Einlauf statt und die Wirkung der 0,9 und 9 %igen NaCl-Lösung wird ohne vorhergehende permanente Injektion geprüft.

Die Versuchsreihe D (die Versuche XIII bis XVI) umfaßt Untersuchungen über die Wirkung von Säuren und Alkalien auf den respiratorischen Stoffwechsel.

Schließlich umfaßt Tabelle XVII Harnstoffversuche und Tabelle XVIII Stoffwechsel und Wirkung von 9 %iger NaCl-Lösung unmittelbar nach dem Anfang der Narkose und der Operation.

Wie das Urethan sich als Narkoticum eignet, geht aus sämtlichen Tabellen hervor, aus denen zu ersehen ist, daß der Stoffwechsel sich innerhalb der Versuchsperioden konstant erhält und am 1. und 2. Versuchstag oft ganz unverändert ist — jedenfalls keine schroffen und bedeutungsvollen Übergänge aufweist. Indessen ist es auch von größtem Interesse, zu erfahren, ob das Urethan nach der bei diesen Versuchen benutzten Anfangsdosis (2 g pro Kilogramm) den Stoffwechsel noch mehr herabsetzt, und im bejahenden Falle, wann man annehmen kann, daß der Stoffwechsel konstant geworden ist.

Versuchsreihe A (Versuche XIa, XIIb, I und II).

Versuch XIa (1—4).

Kein Einlauf. 0,7 g Urethan pro Kilogramm. Der Stoffwechsel sinkt um 2 %; siehe die Tabelle XIa.

Versuch XIIb (4—10).

Einlauf von 0,9 % NaCl. 1 g Urethan pro Kilogramm. Stoffwechselsteigerung um 2 %; siehe die Tabelle XIIb.

Versuch I.

Kein Einlauf. 1 g Urethan pro Kilogramm. 20 Minuten danach ist die Sauerstoffaufnahme um 7,5 % gesunken, bleibt jetzt aber in den folgenden Respirationsversuchen vollständig konstant (2 Stunden).

Tabelle I.

Versuchsreihe A.

Nummer des Versuchstieres: 22. Körpergewicht 2900 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 19.V. 11^{30} 6 g Urethan ÷ Injektion	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
1	19.V. 4^{55}	15	10,82	2,91	17,54	403	488	0,83	Vorversuch.	19.V. 3^{30}	40	37,3
2	19. 5^{15}	15	12,78	2,58	18,04	422	494	0,85		19. 4^{00}	10	37,5
										19. 5^{00}	25	37,8
3	19. 5^{50}	15	11,30	2,72	17,89	394	460	0,86	5^{30} 3 g Urethan subcutan. Versuchsperiode.	19. $6^{\underline{00}}$	5	37,7
4	19. $6^{\underline{25}}$	15	11,35	2,66	17,94	387	455	0,85		19. $7^{\underline{00}}$	3	37,6
5	19. $6^{\underline{50}}$	15	12,05	2,52	18,09	389	460	0,85		19. $8^{\underline{00}}$	3	3
6	19. $7^{\underline{40}}$	15	13,48	2,21	18,43	381	454	0,84		19. $10^{\underline{30}}$	2	[illegible]

Die unterstrichenen Minutenziffern bezeichnen die Zeit von $6^{\underline{00}}$ abends bis $5^{\underline{59}}$ morgens.

Versuch II.

Einlauf von 0,9 % NaCl. 0,8 g Urethan pro Kilogramm. Stoffwechselsteigerung um 1 %.

Tabelle II.

Nummer des Versuchstieres: 29. Körpergewicht 2500 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 18. VI. 4^{30} 5 g Urethan. 5^{30} Injektion von 0,9 % NaCl. 50 ccm pro Std.	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
1	18.VI. $9^{\underline{40}}$	15	9,33	2,50	17,72	341	471	0,72	Vorversuch.	18.VI. $8^{\underline{20}}$	55	35,3
										18. $9^{\underline{35}}$	70	35,9
									$10^{\underline{05}}$ 2 g Urethan subc.	18. $10^{\underline{30}}$	60	36,0
2	18. $11^{\underline{45}}$	15	8,11	2,97	17,18	351	475	0,74	Versuch.	18. $12^{\underline{05}}$	90	36,1

Das Urethan kann also an einem mit 2 g pro Kilogramm narkotisierten Kaninchen den Stoffwechsel noch um ein Teil (7,5 %) erniedrigen. Die Erniedrigung der Sauerstoffaufnahme hat schon 20 Minuten nach der Injektion stattgefunden, und der Stoffwechsel bleibt jetzt vollständig konstant (Versuch I).

Die Versuche XIa, XIIb und II weisen keine Wirkung des Urethans auf — indem eine Veränderung der Sauerstoffaufnahme von einigen Prozent ja innerhalb der Fehlergrenze der Analyse und des Versuches liegt. Man kann selbstverständlich so kleinen Stoffwechselveränderungen nur als Gliedern einer Reihe (siehe z. B. Tabelle IIIa und b), nicht aber als isolierten Erscheinungen einen praktischen Wert beimessen.

Versuchsreihe B (die Versuche III bis VIII).

Versuch III.

a) 1. Versuchstag. Einlauf von 1,8 %iger NaCl-Lösung. Einlaufgeschwindigkeit ca. 36 ccm pro Stunde. Stoffwechselsteigerung durchschnittlich 2 %, Maximum 5 %.

Tabelle III.

Versuchsreihe B.

Nummer des Versuchstieres: 15. Körpergewicht 2400 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 16. IV. 6^{00} Einlauf von 0,9 % NaCl Schnelligkeit ca. 85 ccm pro Std.	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
a)												
										16. IV. 10^{00}	50	38,0
1	17. IV. 12^{30}	15	11,94	2,47	17,86	450	597	0,75	17. IV. Vorversuch. (0,9 % NaCl, 35 ccm pro Std.)	17. 10^{00}	150	38,2
2	17. 12^{55}	15	12,32	2,49	17,86	467	614	0,76		17. 12^{30}	150	38,0
3	17. 1^{20}	15	12,00	2,54	17,80	465	611	0,76		17. 1^{30}	60	38,2
4	17. 2^{05}	15	12,55	2,40	17,96	459	607	0,76	Versuchsperiode. Von 1^{40} bis 3^{30} Infusion von 65 ccm 1,8 % NaCl (= ca. 35 ccm pro Std.).	17. 2^{30}	40	38,4
5	17. 2^{45}	15	12,54	2,46	17,86	470	627	0,75		17. 3^{30}	50	38,6
6	17. 3^{15}	15	12,29	2,56	17,75	480	637	0,75		—	—	—
7	17. 5^{25}	15	11,55	2,62	17,67	466	619	0,75	Nachperiode. (0,9 % NaCl. 35 ccm pro Std.) 9^{00} 2,5 g Urethan subcutan.	17. 5^{25}	70	38,8
8	17. 5^{45}	15	11,57	2,63	17,69	468	614	0,76		17. 6^{15}	30	38,7
9	17. 8^{40}	15	10,53	2,83	17,33	457	621	0,74		17. 8^{40}	75	39,0
b)												
10	18. IV. 1^{45}	15	10,53	2,81	17,39	459	617	0,74	18. IV. Vorversuch. (0,9 % NaCl, ca. 85 pro Std.)	18. IV. 6^{00}	255	39,0
11	18. 2^{20}	15	9,76	2,93	17,16	444	611	0,73		18. 1^{40}	245	38,9
12	18. 3^{15}	15	9,60	2,78	17,06	414	627	0,66	Versuchsperiode. Von 2^{35} bis 4^{30} Infusion von 8 % NaCl, 66 ccm (= ca. 37 ccm pro Std.).	18. 3^{15}	60	38,9
13	18. 3^{50}	15	10,41	3,11	17,20	502	638	0,79		18. 4^{15}	40	39,0
14	18. 4^{15}	15	10,15	3,06	17,10	482	642	0,75		—	—	—
15	18. 6^{40}	15	9,73	3,07	17,08	465	623	0,75	Nachperiode. (0,9 % NaCl. ca. 35 ccm pro Std.)	18. 7^{00}	100	39,0
16	18. 7^{00}	15	9,65	3,01	17,11	453	615	0,74		18. 10^{00}	45	38,4
									19. IV. 11^{30} Atmung oberflächlich, aussetzend. Puls schlecht. Das Tier wird um 2^{30} getötet. Die Sektion zeigt keine pathologischen Veränderungen.	19. 6^{45}	300	39,0
										19. 11^{30}	70	38,2

Mit dem Durchschnitt der Vor- und Nachperiode als Basis betragen die Steigerungen bzw. 1 % und 4 %; die Diurese nicht gesteigert.

b) 2. Tag. Einlauf von 3 % NaCl. Die nämliche Einlaufgeschwindigkeit wie bei a). Die Steigerungen 3,5 % und 4,5 % oder 3 % und 4 %. Die Diurese ein wenig gesteigert.

Der Stoffwechsel in den Vorperioden mit 0,9 % NaCl vollständig konstant und an beiden Tagen der gleiche.

Versuch IV.

Bei Einspritzung von 4,5 % NaCl-Lösung sinkt das Respirationsvolumen auf $^2/_3$ des ursprünglichen Volumens, und das Kaninchen verendet ein paar Stunden später, indem die Respiration sich fortwährend verlangsamt. Die Sektion ergibt einen Schleimpfropfen in der Trachealkanüle. Die Analyse ergibt eine Abnahme der Sauerstoffaufnahme von 8 % während der Injektion von 4,5 % NaCl.

Die Versuche sind jedoch wegen der vollkommen anomalen Verhältnisse (und der fehlenden Nachperiode) zu kassieren.

Versuch V.

a) Einlauf von 4,5 % NaCl. 40 ccm pro Stunde. Durchschnittliche Steigerung 0,5 %, maximale Steigerung 4,5 % oder 0 % und 4,5 % (Vor- und Nachperiode). Die Diurese gesteigert.

b) 2. Tag wieder 4,5 % NaCl. O_2-Steigerung 5 % und 6,5 % oder 0,5 % und 2 % — man kann sich jedoch sicherlich mit der Probe 5^{00} als Nachperiode begnügen und die Proben 7^{40} und 8^{00} abziehen, wo das Kaninchen wahrscheinlich im Begriff war zu erwachen (Bewegungen). Wir bekommen dann statt dessen eine O_2-Steigerung von 3,5 % und 5 %. Die Diurese ist gesteigert. (Tabelle V siehe S. 266.)

Versuch VI.

a) Einlauf von 4,5 % NaCl. 40 ccm pro Stunde. Keine Steigerung, Stoffwechsel konstant. Die Stoffwechselsteigerung (von ca. 3,5 %) in den beiden letzten Respirationsversuchen rührt wahrscheinlich von dem Erwachen des Kaninchens her; es bewegte sich während der Versuche. Die Diurese ist gesteigert.

Tabelle V.

Nummer des Versuchstieres: 18. Körpergewicht 2000 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 4. V. 5^{30} Einlauf von 0,9 % NaCl. Schnelligkeit: ca. 40 ccm pro Std.	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
a)										4. V. 9^{45}	25	33,9
1	5. V. 12^{45}	15	7,08	3,16	17,04	411	538	0,78	5. V. Vorversuch. (0,9 % NaCl 40 ccm pro Std.)	4. 12^{15}	35	34,5
2	5. 1^{15}	15	6,90	3,12	17,05	396	524	0,76		5. 6^{30}	50	36,5
3	5. 1^{40}	15	6,59	3,20	16,89	388	534	0,74		5. 10^{00}	50	36,7
										5. 11^{15}	40	36,9
									Versuchsperiode. Von 2^{00} bis 3^{35} Injektion von 4,5 % NaCl; 62 ccm = ca. 40 ccm pro Std.	5. 12^{15}	55	36,8
										5. 1^{00}	45	36,8
4	5. 2^{25}	15	7,32	3,10	17,05	417	557	0,75	Während der Versuche 3—8 wurden kleine zuckende Bewegungen der Hinterbeine beobachtet. Das Kaninchen scheint doch nicht d. Erwachen nahe zu sein, hat kein Schmerzgefühl.	5. 2^{15}	30	36,8
5	5. 2^{50}	15	7,19	3,07	17,11	404	538	0,75		5. 3^{15}	85	36,8
6	5. 3^{20}	15	6,60	3,61	16,88	438	512	0,85				
										5. 3^{45}	50	36,8
7	5. 4^{20}	15	8,18	2,86	17,61	430	525	0,82	Nachperiode. (0,9 % NaCl, 30 ccm pro Std.)	5. 4^{15}	25	36,9
8	5. 5^{45}	15	6,04	3,57	16,32	396	548	0,72		5. 5^{15}	40	37,0
9	5. 6^{15}	15	5,85	3,68	16,26	396	536	0,74		5. 6^{15}	25	37,0
									10^{40} 2 g Urethan subcutan.	5. 10^{40}	60	37,2
b)									6. V. Einlauf während der Nacht 45 ccm pro Std. Bewegungen. 2 g Urethan subcutan 10^{30}. Einlauf 40 ccm pro Std.	6. 6^{20}	385	37,0
										6. 9^{00}	90	37,0
										6. 10^{00}	55	37,0
										6. 11^{00}	50	37,0
										6. 12^{00}	65	37,2
10	6. 1^{35}	15	5,53	4,02	15,78	407	561	0,72	Vorversuch. (0,9 % NaCl, 40 ccm pro Std.)	6. 1^{00}	60	37,2
11	6. 1^{55}	15	5,75	3,99	15,97	420	554	0,76		6. 2^{00}	45	37,3
										6. 3^{00}	75	37,3
12	6. 2^{45}	15	6,57	3,69	16,34	444	587	0,76	Versuchsperiode. Von 2^{15} bis 3^{41} Injektion von 4,5 % NaCl; 58 ccm = 40 ccm pro Std.			
13	6. 3^{07}	15	6,66	3,63	16,36	442	593	0,75		6. 4^{00}	100	37,6
14	6. 3^{25}	15	6,29	3,74	16,21	430	579	0,74				
15	6. 5^{00}	15	6,09	3,90	16,10	435	572	0,76	Nachperiode. (0,9 % NaCl, 40 ccm pro Std.) Während des Versuches 13 einige Male Bewegungen des ganzes Körpers. Starb in der Nacht.	6. 5^{00}	30	37,7
16	6. 7^{40}	15	9,37	2,81	17,58	484	610	0,79		6. 6^{00}	15	37,8
17	6. 8^{00}	15	8,89	2,91	17,30	475	637	0,75		6. 8^{00}	30	37,9
										6. 11^{20}	65	—

b) Am nächsten Tag 9 % NaCl. 40 ccm pro Stunde. Steigerung 4,5 %, Maximum 9 % (die maximale Steigerung tritt sofort ein, zu Ende der Injektion hat der Stoffwechsel normale Höhe) oder 6,5 % und 11 %. Die Diurese gesteigert. Der letzte Versuch (15) um 3^{35}, bei dem die Respiration schroff abnimmt, die Temperatur sinkt, die Harnsekretion aufhört und der

Stoffwechsel fast bis auf die Hälfte abnimmt, scheidet natürlicherweise aus.

Tabelle VI.

Nummer des Versuchtieres: 17. Körpergewicht 2350 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 27. IV. 5^{30} Einlauf von 0,9 % NaCl. ca. 40 ccm pro Std.	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C.
a)												
1	28.IV. 10^{55}	15	9,32	2,79	17,49	414	543	0,76	28. IV. Vorversuch. (0,9 % NaCl, 40 ccm pro Std.)	27.IV. 11^{30}	200	37,4
2	28. 11^{20}	15	9,38	2,76	17,49	412	548	0,75		28. 6^{00}	225	37,0
3	28. 11^{40}	15	9,49	2,78	17,48	420	554	0,76		28. 10^{15}	150	37,2
										28. 11^{45}	40	37,3
4	28. 12^{55}	15	8,20	3,03	17,03	395	545	0,72	Versuchsperiode. Von 11^{55} bis 1^{25} Injektion von 4,5 % NaCl; 60 ccm (= 40 ccm pro Std.)	28. 12^{45}	60	37,7
5	28. 1^{15}	15	7,51	3,37	16,65	403	546	0,74		—	—	—
6	28. 2^{35}	15	8,43	3,26	17,06	437	547	0,80	Nachperiode. (0,9 % NaCl, 40 ccm pro Std.) Einige Male Zuckungen d. Hinterbeine während des Versuches 7. 10^{45} 2,5 g Urethan subcutan.	28. 2^{45}	90	37,4
7	28. 5^{20}	15	8,37	3,19	16,98	427	560	0,76		28. 3^{45}	50	37,4
8	28. 5^{50}	15	8,41	3,20	16,93	430	573	0,75		28. 5^{15}	45	37,8
										28. 6^{45}	25	37,9
										28. 10^{45}	85	37,9
b)												
9	29. 10^{25}	15	8,02	3,09	17,03	395	533	0,74	29. IV. Vorversuch. (0,9 % NaCl, 40 ccm pro Std.)	29. 6^{45}	285	38,0
10	29. 10^{50}	15	7,75	3,16	16,95	390	525	0,74		29. 10^{00}	115	37,8
										29. 11^{00}	40	37,7
11	29. 11^{30}	15	8,51	3,20	16,94	434	576	0,75	Versuchsperiode. Von 11^{05} bis 12^{20} Injektion von 9 % NaCl; 50 ccm (= 40 ccm pro Std.)	29. 12^{00}	130	37,4
12	29. 11^{50}	15	8,28	3,09	17,00	403	554	0,73		29. 12^{30}	110	37,1
13	29. 12^{10}	15	7,40	3,33	16,73	393	529	0,74		29. 1^{00}	35	37,3
14	29. 3^{00}	15	6,09	3,62	16,09	350	512	0,68	Nachperiode. (0,9 % NaCl, 40 ccm pro Std.) 3^{20} Resp. und Puls langsam u. schlecht. 5^{30} gestorben. Sektion: nichts Besonderes, keine Hämorrhagien.	29. 2^{00}	40	37,4
15	29. 3^{25}	15	4,48	3,31	17,29	241	269	0,90		29. 3^{00}	35	37,7
										29. 3^{30}	10	37,2
										29. 4^{00}	0	36,9
										29. 5^{20}	0	36,0

Versuch VII.

Einlauf von 9 % NaCl; ca. 50 ccm pro Stunde. Steigerung 5 % und 6,5 % (oder 4 % und 5,5 %, wenn es gestattet ist, mit dem Mittel von zwei so verschiedenen Zahlen wie denen der Nachperiode zu rechnen). Der Stoffwechsel des Kaninchens ist wahrscheinlich noch nicht normal und gleichmäßig. Die Diurese gesteigert, aber nur gering.

Tabelle VII.

Nummer des Versuchstieres: 19. Körpergewicht 3300 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 11. V. 4^{00} Einlauf von 0,9 % NaCl, 70 ccm pro Std. Nach $12^{\underline{30}}$: 50 ccm pro Std.	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
1	12.V.10^{35}	15	13,73	1,87	18,72	292	366	0,80	12. V. Vorversuch. (0,9 % NaCl, 50 ccm pro Std.)	11. V. $1^{\underline{00}}$	15	35,9
2	12. 10^{55}	15	13,52	1,88	18,69	289	367	0,79		12. 9^{30}	20	
3	12. 11^{15}	15	13,70	1,86	18,69	289	372	0,78		12. 11^{30}	5	35,5
									Urinsekretion um 1^{40}.			
4	12. 11^{45}	15	14,68	1,82	18,73	303	392	0,77	Versuchsperiode. Von 11^{30} bis 12^{50} Injektion von 9 % NaCl; 62 ccm = ca. 50 ccm pro Std.	12. 12^{00}	10	
5	12. 12^{15}	15	14,91	1,82	18,78	308	387	0,79		12. 12^{30}	17	35,2
6	12. 12^{35}	15	15,11	1,83	18,84	314	379	0,83		12. 1^{00}	18	35,2
									Nachperiode. (0,9 % NaCl, ca. 50 ccm pro Std.)	12. 2^{00}	10	35,2
										12. 3^{00}	5	35,2
7	12. 2^{15}	15	13,83	1,84	18,48	287	406	0,69	Nach $9^{\underline{00}}$ gestorben. Sektion: Der Darm und die serösen Cavitäten mit seröser u. hämorrhagischer Flüssigkeit gefüllt.	12. 4^{00}	7	35,3
8	12. 3^{30}	15	14,32	1,74	18,84	281	344	0,82		12. 5^{00}	8	35,4
									Von d. Nieren u. übrigen Organen nichts Besonderes zu bemerken.	12. $9^{\underline{00}}$	10	35,4

Tabelle VIII.

Nummer des Versuchstieres: 20. Körpergewicht 2400 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 14. V. 5^{00} Einlauf von 0,9 % NaCl. 42 ccm pro Std.	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
										14.V.$10^{\underline{00}}$	40	35,8
1	15.V.12^{00}	15	7,91	2,81	17,35	347	460	0,75	15. V. Vorversuch. (0,9 % NaCl, 42 ccm pro Std.)	14. $12^{\underline{40}}$	55	35,7
2	15. 12^{20}	15	8,01	2,79	17,50	349	456	0,76		15. 6^{20}	105	36,0
3	15. 12^{40}	15	7,77	2,82	17,38	342	460	0,74		15. 10^{30}	60	36,0
										15. 12^{00}	15	35,9
										15. 1^{00}	15	35,9
4	15. 1^{20}	15	8,55	2,84	17,99	379	403	0,94	Versuchsperiode. Von 1^{00} bis 2^{15} Injektion von 9 % NaCl, 62 ccm = ca. 50 pr. St.	15. 1^{30}	130	
5	15. 1^{42}	15	8,86	2,68	18,19	371	389	0,95		15. 2^{00}	105	35,3
6	15. 2^{00}	15	9,12	2,22	18,34	316	386	0,82		15. 2^{30}	70	35,0
7	15. 3^{35}	15	8,25	2,74	17,66	355	448	0,79	Nachperiode. (0,9 % NaCl, ca. 50 ccm pro Std.)	15. 3^{30}	35	35,3
8	15. 5^{45}	15	8,69	2,71	17,77	371	467	0,80		15. 4^{00}	20	35,7
9	15. $6^{\underline{05}}$	15	8,61	2,65	17,82	360	445	0,81		15. $6^{\underline{00}}$	100	36,1
									16. V. Nach 6^{50} gestorben.	15. $7^{\underline{00}}$	40	36,4
										15. $11^{\underline{50}}$	15	36,3
										16. 6^{50}	227	35,8

Versuch VIII.

Einlauf von 9 % NaCl, 42 bis 50 ccm pro Stunde. Der O_2-Verbrauch **nimmt um 14,5 % ab, Maximum** 16 % (oder 14 %

und 15 %). Während der Injektion sank die Temperatur des Kaninchens um ca. 1°, die Temperatur des Thermostaten war unverändert. Die Temperatur stieg wieder bis zur ursprünglichen Höhe, nachdem die Injektion von 9 % NaCl aufgehört hatte. Das Kaninchen bot nichts Abnormes dar. Die Diurese gesteigert.

Nach diesen Versuchen (siehe auch die Versuchsreihe C) scheinen niedrige Konzentrationen von NaCl (1,8 % und 3 %) den Sauerstoffverbrauch gleichmäßig und in geringem Grade (ca. 5 %) zu steigern. Geht man zur physiologischen NaCl-Lösung zurück, so kehrt auch der Sauerstoffverbrauch zum normalen Standpunkt zurück. Bei stärkeren Konzentrationen von NaCl (4,5 % und 9 % — also stark hypertonischen Lösungen) steigt der Stoffwechsel kurz nach der Injektion bis zum höchsten Wert (5 bis 10 %), um darauf zu sinken und nach ca. 1½ stündiger Infusion den normalen Wert zu erreichen. Ein paar Stunden nach Aufhören der Injektion ist der Stoffwechsel immer normal.

Wahrscheinlich würde der Stoffwechsel bei den stärkeren Konzentrationen und bei fortgesetztem Einlauf unter den normalen Wert hinabsinken. Darauf deutet (außer der Versuchsreihe C) der Versuch VIII, wo die Stoffwechselsteigerung sich gar nicht zeigt (Versuch IV kann für diese Annahme keine Stütze bieten, er ist unbrauchbar).

Man kann demnach annehmen, daß Salzlösungen den respiratorischen Stoffwechsel steigern (die Diurese ist gewöhnlich gesteigert)[1]), daß sie aber in stärkeren Konzentrationen zugleich schädlich wirken und die Vitalität des Tieres herabsetzen, wodurch die Temperatur und der Stoffwechsel trotz der „Reizung“ und der enorm gesteigerten Tätigkeit der Nieren zum Sinken gebracht werden.

Gehen wir nun zur Versuchsreihe C über, so haben wir nicht mehr die reine Salzwirkung vor uns. Hier führen wir plötzlich eine große Flüssigkeitsmenge in das Gefäßsystem ein, ohne daß des Kaninchen Nieren und Herz darauf „eingestellt“ sind.

Wenn man davon ausgehen kann, daß eine gesteigerte Flüssigkeitsmenge in den Gefäßen den Stoffwechsel in die

[1]) Daß eine gesteigerte Diurese den Stoffwechsel steigen macht, ist dargetan worden von Barcroft und Brodie: The gaseous metabolism of the kidney. Journ. of Physiol. **32**, 18 und **33**, 52.

Höhe treibt (siehe z. B. P. Hári, diese Zeitschr. 44, 1), so müßte dies hier stattfinden, vorausgesetzt, daß das Kaninchen sich nicht sofort der zugeführten Flüssigkeit entledigen kann. Gleichfalls würde man einer gleichmäßigen Steigerung gewärtig sein, weil fortwährend mehr Flüssigkeit zugeführt wird, vielleicht auch ein wenig wegen des eingespritzten 0,9 % NaCl.

Bei Einspritzung von 9 % NaCl würde man dagegen annehmen, daß die erwähnte „hypothetische" Giftwirkung schneller und gewaltiger eintreten würde. Dies scheint nun auch wirklich der Fall zu sein.

Tabelle IX.

Versuchsreihe C.

Nummer des Versuchstieres: 23. Körpergewicht 2500 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 25. V. 11^{00} Urethan (5 g) ÷ Injektion	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
a)												
1	25. V. 3^{30}	15	10,29	2,32	17,86	370	530	0,70	Vorversuch. ÷ Injektion.	25. V. 3^{00}	0	36,9
2	25. 3^{55}	15	11,83	2,04	18,31	374	519	0,72		25. 4^{45}	10	37,1
3	25. 4^{30}	15	12,34	1,97	18,39	377	525	0,72				
4	25. 5^{35}	15	9,74	2,78	17,49	418	552	0,76	4^{45} wird eine Kanüle in d. Vena jugularis eingelegt. Das Kaninchen schläft gut. Versuchsperiode. Von 4^{55} bis 6^{55} Injektion von 0,9 % NaCl; 80 ccm = 40 ccm pro Std.	25. 5^{35}	0	37,3
5	25. 6^{00}	15	10,41	2,69	17,44	434	603	0,72		25. 6^{55}	0	38,0
6	25. 6^{40}	15	11,16	2,63	17,55	453	626	0,72				
7	25. 9^{15}	15	17,01	1,54	18,91	405	578	0,70	Nachperiode. ÷ Injektion.	25. 9^{30}	0	38,4
									9^{40} 2,5 g Urethan subcutan. 10^{30} Schleim in der Trachealkanüle. Die Kanüle wird umgelegt.	26. 7^{00}	45	37,8
b)												
8	26. 11^{00}	15	22,88	1,16	19,43	411	581	0,71	26. V. Vorversuch. ÷ Injektion.	26. 10^{00}	15	37,9
9	26. 11^{20}	15	22,67	1,16	19,43	408	576	0,71		26. 11^{30}	5	38,0
10	26. 11^{55}	15	17,00	1,63	18,86	420	590	0,71	Versuchsperiode. Von 11^{40} bis 12^{55} Injektion von 9 % NaCl; 55 ccm = 44 ccm pro Std. 11^{45}: Diurese beginnt.	26. 12^{00}	60	38,0
11	26. 12^{15}	15	15,58	1,71	18,70	413	584	0,71		26. 12^{15}	70	37,9
12	26. 12^{40}	15	13,10	1,89	18,45	384	546	0,70		26. 12^{30}	45	37,8
										26. 1^{00}	45	37,6
13	26. 1^{55}	15	16,06	1,66	18,92	412	534	0,77	Nachperiode. ÷ Injektion. Respir. von 2^{15} bis 3^{45} regelmäßig ca. 19 pro 1/4 Std. Nach 3^{45} langsamer und langsamer. Stirbt 4^{10} während des Versuches. Sektion: nichts Besonderes. Trachealkanüle leider nicht untersucht.	26. 2^{00}	5	37,8
14	26. 3^{55}									26. 4^{00}	0	38,2

Versuchsreihe C (die Versuche IX bis XII).

Versuch IX.

a) **Kein Einlauf.**

Einlauf von 0,9 % NaCl, 40 ccm pro Stunde. Steigerung **durchschnittlich 13 %, Maximum 19 %.** In der Nachperiode **hat Respirationsvolumen und -frequenz stark** zugenommen — wahrscheinlich **wegen einer Schleimreizung** in der Trachea; dennoch ist **der Stoffwechsel geringer als während** der Einspritzung. **Der Durchschnitt der Vor- und Nachperiode ergibt** eine Steigerung von **7,5 % und 11 %.**

b) Am nächsten **Tag; kein Einlauf.**

Die Respiration **sehr beschleunigt, der Stoffwechsel jedoch konstant.** Einlauf von **9 % NaCl, 44 ccm pro** Stunde. Sofort eine kleine Steigerung **(von 2 %), darauf sinkt** der Stoffwechsel gleichmäßig 5,5 % (Durch**schnitt ÷ 1 %). Eine** Stunde nach Aufhören der Infusion ist **die Sauerstoffaufnahme** noch weiter gesunken, während das **Respirationsvolumen im** Begriff ist anzusteigen. Während des **eigentlichen Nachversuches** 3 Uhr 55 sinkt das Respirations**volumen (das bisher fortwährend** gestiegen ist) **jäh,** und das Kaninchen **verendet (4 Uhr** 10).

Tabelle X.

Nummer des Versuchstieres: 24. Körpergewicht 2950 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 27. V. 4^{15} 6 g Urethan ÷ Injektion	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
										27.V. 12^{30}	20	37,2
										28. 7^{00}	5	36,2
1	28. V. 2^{45}	15	13,37	2,00	18,52	334	429	0,78	28. V. Vorversuch. ÷ Injektion.	28. 9^{15}	0	35,9
2	28. 3^{30}	15	12,55	2,04	18,47	321	413	0,78		28. 12^{00}	0	35,8
3	28. 3^{43}	15	12,54	2,04	18,46	321	414	0,78		28. 2^{30}	0	35,8
										28. 3^{30}	0	35,7
4	28. 4^{30}	15	10,83	2,26	17,76	307	470	0,65	4^{00} Ureterunterbindung und Kanüle in d. Vena jugularis. Versuchsperiode. Von 4^{20} bis 5^{40} Injektion von 9 % NaCl; 66 ccm = 50 ccm pro Std.	28. 4^{30}		35,3
5	28. 4^{50}	15	10,53	2,29	17,75	303	458	0,66		28. 5^{30}		35,3
6	28. 5^{20}	15	9,00	2,37	17,87	268	373	0,72				
7	28. 7^{40}	15	9,37	2,53	18,01	301	364	0,83	Nachperiode. ÷ Injektion.	28. 6^{15}		35,3
8	28. 8^{10}	15	9,86	2,39	18,20	297	357	0,83		28. 7^{40}		35,3
9	28. 8^{40}	15	9,90	2,32	18,27	291	351	0,83		28. 9^{00}		35,5
										28. 10^{00}		35,7
									Das Tier stirbt während der Nacht. Sektion: Schleim in der Trachealkanüle. Seröse Flüssigkeit in dem Darm, sonst nichts Besonderes.			

Versuch X.

Kein Einlauf. — Einlauf von 9 % NaCl. 50 ccm pro Stunde. Unterbindung der Uretere vor dem Einlauf. Sofort Steigerung von 12 %. Danach sinkt die Sauerstoffaufnahme 11 % (Durchschnitt + 3,5 %). Aufhören der Infusion. Der Stoffwechsel ist ferner gesunken (÷ 15 %), ist aber konstant.

Tabelle XI.

Nummer des Versuchstieres: 25. Körpergewicht 4350 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 3. VI. 3^{30} 8 g Urethan ÷ Injektion	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
a)												
1	3. VI. 9^{13}	15	14,73	2,33	18,01	291	391	0,74	Vorversuch. ÷ Injektion.	3. VI. 8^{45}	0	37,0
2	3. 9^{31}	15	15,01	2,29	18,10	291	384	0,76				
3	3. 12^{35}	15	14,80	2,32	18,08	291	382	0,76	9^{50} 3 g Urethan subcutan. Versuchsperiode.	3. 12^{40}	0	37,2
4	3. 12^{55}	15	15,25	2,28	18,17	295	381	0,79				
b)									4. VI.	4. 9^{30}	0	37,8
5	4. 10^{40}	15	18,57	2,10	18,49	330	406	0,81	Vorversuch. ÷ Injektion.	4. 10^{30}	0	38,1
6	4. 11^{15}	15	18,10	2,07	18,51	317	392	0,81		4. 11^{55}	30 [1]	38,4
7	4. 11^{35}	15	17,33	2,12	18,50	311	376	0,83				
									12^{00} Kanüle in d. Vena jugularis. Einlauf 12^{10} von 0,9 % NaCl; ca. 70 ccm pro Std. Die Respiration plötzlich langsam, 12^{25} hört beinahe auf.			
8	4. 1^{30}	15	33,16	1,13	19,70	316	366	0,86	Schleim wird aus der Luftröhre herausgezogen, und die Trachealkanüle wird umgelegt. 12^{45} Respiration nun sehr schnell (ca. 115 in der Minute) und Respirationsvolumen viel größer wegen d. Trachealirritation. Von 2^{00} Einlauf nur 50 ccm pro Std. Versuchsperiode. 0,9 % NaCl.	4. 12^{45}	0	37,7
9	4. 2^{00}	15	32,77	1,14	19,66	315	376	0,84		4. 2^{00}	0	37,4
10	4. 4^{10}	15	32,66	1,14	19,68	314	366	0,86		4. 4^{00}	0	37,4
11	4. 4^{30}	15	32,64	1,13	19,63	311	385	0,81		4. 5^{15}	0	37,2
12	4. 8^{35}	15	30,17	1,20	19,51	305	389	0,78		4. 8^{30}	0	37,0
13	4. 8^{55}	15	29,35	1,23	19,41	304	408	0,75		4. 10^{30}	0	37,0
									5. VI. Nach 7^{20} gestorben. Sektion: Serös-hämorrhagische Flüssigkeit in dem Darm. Abscessus colli. Tumores mamma.	5. 7^{20}	0	37,5

[1] Fließt hinaus bei veränderter Stellung der Kanüle.

Veruch XI.

b) Am 2. Versuchstag (5 bis 13). Kein Einlauf. Sauerstoffaufnahme nicht konstant: Die Vorversuche schwanken im Maximum

um 8%. Einlauf von 0,9% NaCl. 50 bis 70 ccm pro Stunde. Harn fortwährend 0. Der Stoffwechsel sinkt ca. 2,5% im Durchschnitt von 8 Stunden. Gleichmäßige Zunahme von ca. ÷ 6,5% auf ca. + 4,5%. Es liegen indessen bei diesem Versuch so viele Unregelmäßigkeiten vor (siehe die Anmerkungen bei der Tabelle), daß der Versuch am besten ausscheidet.

Versuch XII.

a) Kein Einlauf. — Einlauf von 0,9% NaCl. 45 ccm pro Stunde. Keine Steigerung.

b) Urethan (siehe Versuchsreihe A).

c) Am nächsten Tag. Fortwährend Einlauf von 0,9% NaCl. 40 ccm pro Stunde. Kein Einlauf. Die Sauerstoffaufnahme nimmt um 1% ab.

d) Wieder 0,9% NaCl. 95 ccm pro Stunde. Die Sauerstoffaufnahme sinkt um 1%.

e) 3. Tag. Kein Einlauf. 0,9% NaCl. 45 ccm pro Stunde. Vor der Einspritzung Unterbindung der Uretere. Die Sauerstoffaufnahme sinkt um 1%.

Während des Versuches in der Nachperiode wird die Respiration plötzlich langsam, und das Kaninchen verendet, indem es an einem Schleimpfropfen in der Trachea erstickt. (Tabelle XII siehe S. 274.)

Die Versuchsreihe C zeigt, daß die plötzliche Injektion einer dem Blut isotonischen Lösung (0,9%ige NaCl-Lösung) den Stoffwechsel sogar bedeutend emportreiben kann (13 bis 19%, Versuch IX a), er kann aber auch vollständig normal (und konstant) bleiben, sogar bei einer Infusion einer so großen Menge wie 95 ccm pro Stunde (Versuch XII a, c, d und e).

Welche Rolle die Harnsekretion dabei spielt, ist nicht klar. Die Unterbindung der Ureteren hat kein deutliches Resultat ergeben. Wahrscheinlich können große Mengen von Flüssigkeit durch die Darmwand (die Lungen und Haut) ausgeschieden werden.

Dem Kaninchen Nr. 25 (Versuch XI) wurden in 9 Stunden ca. 500 ccm 0,9%ige NaCl-Lösung eingespritzt, ohne daß sich ein Tropfen Harn noch eine wesentliche Steigerung des Stoffwechsels einstellte. Im Laufe der Nacht wurden noch 500 ccm eingespritzt (noch immer ohne Harnsekretion). Die Sektion ergab einen mit seröser, ein wenig hämorrhagischer Flüssigkeit

gefüllten Darm und seröse Hohlräume. Hier hatte der Darm die Rolle der aus irgendeinem Grunde nicht funktionierenden Niere in betreff der Flüssigkeitsausscheidung übernommen.

Etwas Ähnliches war der Fall mit dem Kaninchen Nr. 19 (Versuch VII).

Tabelle XII.

Nummer des Versuchstieres: 27. Körpergewicht 2600 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 9. VI. 11^{00} Urethan (5 g) ÷ Injektion	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
a)												
1	9.VI. 3^{45}	15	11,80	2,06	18,47	345	438	0,78	÷ Injektion.	9.VI. 2^{00}	20	35,8
2	9. 4^{15}	15	12,23	1,87	18,62	324	430	0,75		9. 4^{35}	0	35,8
3	9. 4^{35}	15	13,19	1,83	18,68	342	451	0,76				
4	9. 5^{15}	15	14,82	1,71	18,98	359	433	0,83	5^{00} Injektion von 0,9 % NaCl. 0,9 % NaCl, 40 ccm pro Std. (Von 6^{20} bis 8^{15} 30 ccm pro Std.)			
5	9. 5^{45}	15	15,00	1,59	19,03	338	432	0,78		9. 6^{10}	0	35,5
6	9. 6^{10}	15	14,59	1,62	18,95	335	441	0,76				
b)												
7	9. 9^{00}	15	16,38	1,47	19,13	339	447	0,76	45 ccm pro Std. 9^{40} 2,5 g Urethan subcutan.	9. 8^{15}	30	36,0
8	9. 9^{30}	15	16,58	1,53	19,13	348	448	0,78		9. 9^{00}	5	36,2
9	9. 10^{20}	15	16,13	1,49	19,12	338	442	0,76		9. 10^{00}	25	36,2
10	9. 11^{00}	15	16,60	1,52	19,11	355	455	0,78		9. 11^{00}	40	36,2
c)									10.VI. 40 ccm pro Std. während der Nacht.	10. 7^{45}	130	36,2
11	10. 11^{05}	15	15,46	1,54	19,02	438	452	0,75	40 ccm pro Std. 1^{05} ÷ Injektion.	10. 10^{15}	20	36,2
12	10. 12^{30}	15	15,61	1,56	19,05	345	447	0,77		10. 11^{15}	30	36,0
13	10. 12^{50}	15	15,65	1,53	19,04	340	453	0,75		10. 12^{30}	60	36,0
										10. 1^{10}	40	36,0
14	10. 2^{00}	15	15,70	1,54	19,05	343	450	0,76	÷ Injektiou.	10. 2^{10}	30	36,0
15	10. 3^{40}	15	16,01	1,54	19,09	349	446	0,78		10. 4^{10}	30	36,0
16	10. 5^{40}	15	15,68	1,50	19,08	333	441	0,76		10. 6^{00}	15	35,8
d)									6^{00} Injektion von 0,9 % NaCl.			
17	10. 6^{15}	15	15,33	1,54	19,02	326	446	0,75	95 ccm pro Std. Diurese: 6^{20}.			
18	10. 6^{50}	15	15,17	1,55	19,04	333	435	0,76	0,9 % NaCl, 95 ccm pro Std.	10. 7^{00}	40	35,4
19	10. 7^{45}	15	15,21	1,52	19,03	327	441	0,74	8^{00} ÷ Injektion.	10. 8^{00}	70	35,3
e)												
20	11. 11^{10}	15	12,00	1,87	18,62	315	417	0,76	11. VI. ÷ Injektion.	11. 7^{30}	90	35,0
21	11. 11^{30}	15	11,81	1,86	18,64	308	405	0,76	11^{48} Ureterunterbindung.	11. 10^{20}	10	35,3
										11. 11^{45}	7	35,4
22	11. 12^{35}	15	11,29	1,96	18,46	310	421	0,74	Injektion von 0,9 % NaCl.	11. 12^{30}		35,3
23	11. 1^{20}	15	11,49	1,86	18,61	300	402	0,75	0,9 % NaCl, 45 ccm pro Std.	11. 1^{30}		35,3
24	11. 2^{05}	15	11,21	1,84	18,59	290	397	0,73	2^{20} ÷ Injektion.	11. 2^{30}		35,1
25	11. 6^{00}	15	9,24	2,13	18,32	271	362	0,75	Respiration plötzlich langsam in der letzten Zeit des Versuches und das Tier stirbt 6^{22}. Sektion: Die Trachealkanüle von Schleim verstopft, sonst nichts zu bemerken.	11. 4^{00}		35,1
										11. 6^{00}		35,1

Die Resultate der Einspritzung von 9 %iger NaCl-Lösung (die Versuche IXb und X) stimmen überein mit den Versuchen der Reihe B und weisen nur, wie zu erwarten war, stärkere „Giftwirkung“ auf, so daß die Sauerstoffaufnahme unter den normalen Standpunkt hinabsinkt und hier später nicht wieder ansteigt.

Die nämliche Wirkung in Versuch XVIII (siehe da), wo das Kaninchen verendet.

Versuchsreihe D (Versuche XIII bis XVI).

Versuch XIII.

Einlauf von 0,9 % NaCl. 50 ccm pro Stunde. $^{n}/_{6}$-HCl. Sofort eine kleine Steigerung (3 %), danach sinkt die Sauerstoffaufnahme stark: 18 %, im Durchschnitt ÷ 5,5 %. In der Nachperiode befindet sich der Stoffwechsel fortwährend auf dem durch die Säurevergiftung geschaffenen niedrigen Niveau (÷ 17 %).

Tabelle XIII.

Versuchsreihe D.

Nummer des Versuchstieres: 30. Körpergewicht 2400 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 22. VI. 6^{00} Injektion von 0,9 % NaCl, ca. 40 ccm pro Stunde	Harn Zeit	Harn ccm	° Temp. °C
									23. VI. Einlauf: 50 ccm pro Std. während der Nacht.	22. VI. 8^{30}	60	35,8
										22. 11^{30}	190	37,0
1	23. VI. 11^{10}	15	9,53	2,62	17,69	374	494	0,76	Vorversuch. (0,9 % NaCl, 50 ccm pro Std.)	23. 7^{20}	305	37,1
2	23. 12^{02}	15	9,09	2,74	17,46	374	505	0,74		23. 10^{15}	80	36,7
										23. 11^{30}	50	37,0
										23. 12^{10}	35	37,1
3	23. 12^{25}	15	10,48	2,72	17,84	428	509	0,84	Versuchsperiode. Von 12^{30} bis 2^{30} Injektion von $^{n}/_{6}$-HCl ($^{n}/_{3}$-HCl + 0,9 % NaCl āā). 127 ccm = ca. 60 ccm pro Std.			
4	23. 12^{45}	15	11,35	2,54	18,04	432	515	0,84		23. 1^{10}	50	37,3
5	23. 1^{20}	15	11,18	2,81	18,40	387	442	0,87		23. 2^{10}	50	37,0
6	23. 2^{15}	15	13,26	1,74	18,97	347	411	0,84				
									Nach 3 Uhr wird der Harn leicht rosa gefärbt von Oxyhämoglobin (spektroskopisch. Untersuchung) + Albumin (Heller, Kochprobe). Das Kaninchen schläft gut.			
7	23. 3^{30}	15	13,33	1,59	18,98	317	420	0,75	Nachperiode. (0,9 % NaCl, ca. 60 ccm pro Std.	23. 3^{40}	70[1]	36,9
8	23. 4^{40}	15	12,14	1,78	18,75	326	428	0,76		23. 4^{40}	75	37,0
9	23. 5^{50}	15	10,18	1,90	18,54	292	394	0,74		23. 5^{45}	72	36,6
									6^{15} ÷ Injektion. 10^{00} Respiration, Puls und Schlaf natürlich. Gestorben i. d. Nacht.	23. 6^{35}	56	36,8

[1]) + Sanguis + Albumen.

Versuch XIV.

Einlauf von 0,9 % NaCl. 47 ccm pro Stunde. $^n/_5$-Citronensäure. Erst eine Steigerung von 4,5 % im Maximum, zuletzt ein Fall von 3 %, Durchschnitt + 1,5 %. Zu Anfang der Nachperiode wieder eine Steigerung der Sauerstoffaufnahme (+ 4 %), danach gleichmäßige Abnahme (durchschnittlich ÷ 2 % der Vorperiode).

Tabelle XIV.

Nummer des Versuchstieres: 31. Körpergewicht 2900 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 25. VI. 5^{00} Injektion von 0,9 % NaCl. 47 ccm pro Std.	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
										25.VI. 9^{00}	30	38,1
1	26.VI. 11^{40}	15	12,29	2,15	18,18	330	454	0,73	26. VI. Vorversuch. (0,9 % NaCl, 47 ccm pro Std.)	26. 7^{15}	310	38,8
2	26. 12^{00}	15	12,47	2,21	18,17	344	461	0,75		26. 10^{30}	120	38,5
3	26. 12^{24}	15	12,11	2,19	18,12	331	458	0,72		26. 11^{30}	45	38,3
										26. 12^{30}	30	38,3
4	26. 12^{56}	15	16,66	1,98	18,78	412	468	0,88	Versuchsperiode. Von 12^{40} bis 2^{40} Injektion von $^n/_5$-Citronensäure (1,29 g $C_6H_8O_7$ — 100 ccm 0,9 % NaCl). 95 ccm = 47,5 ccm pro Std.			
5	26. 1^{20}	15	22,37	1,51	19,30	424	478	0,89		26. 1^{30}	15	37,9
6	26. 1^{55}	15	21,75	1,35	19,31	367	473	0,78		26. 2^{30}	10	37,3
7	26. 2^{24}	15	20,23	1,42	19,29	359	444	0,81				
										26. 3^{30}	30	37,4
8	26. 3^{40}	15	14,11	1,93	18,44	341	476	0,72	Nachperiode. (0,9 % NaCl, 48 ccm pro Std.)	26. 4^{30}	55	37,7
9	26. 4^{40}	15	12,28	2,14	18,20	330	453	0,73		26. 5^{45}	60	37,7
10	26. 5^{40}	15	11,65	2,12	18,17	309	436	0,71		26. 9^{00}	140	37,8
11	26. 9^{45}	15	11,28	2,15	18,18	305	421	0,72		26. 10^{00}	35	37,7
									10^{30} Das Kaninchen wird aus dem Versuch genommen.	26. 11^{30}		36,8
										27. 8^{00}		35,2
									Die Kanülen der Blase und Vene werden unterbunden.	28. 7^{00}		35,5
										28. 9^{30}		36,0
									30. VI. 2 Uhr. Spontan keine Bewegungen. Wird getötet.	29. 7^{00}		36,0
										29. 7^{30}		37,1
										30. 7^{00}		37,1
										30. 2^{00}		36,2

Versuch XV.

a) Einlauf von 0,9 % NaCl. 50 ccm pro Stunde. $^n/_3$-Citronensäure. Fortwährende gleichmäßige Abnahme bis auf 9 %, durchschnittlich ÷ 5,5 %. Die O_2-Aufnahme steigert sich dann wieder in der Nachperiode und ist konstant, erreicht fast den normalen Standpunkt (2 % niedriger).

b) Am nächsten Tag fortwährend 0,9 % NaCl, Stoffwechsel konstant. $^n/_5$-NaOH, verendet ca. $^1/_2$ Stunde danach.

Tabelle XV.

Nummer des Versuchstieres: 32. Körpergewicht 2150 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 30. VI. 5^{30} Injektion von 0,9 % NaCl. 50 ccm pro Std.	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
a)									1. VII. Injektion während der Nacht, nur 20 ccm pro Std.	30. VI. 10^{00}	0	35,1
									Von 10^{40} an 40 ccm pro Std.	30. 1^{35}	130	35,9
1	1. VII. 2^{00}	15	6,88	2,90	17,20	326	450	0,73		1. VII. 7^{00}	80	36,4
2	1. 2^{30}	15	6,85	2,89	17,22	334	459	0,73		1. 10^{40}	10	36,7
3	1. 2^{55}	15	6,98	2,81	17,27	330	463	0,71	Vorversuch.	1. 12^{00}	5	36,7
									(0,9 % NaCl. 40 ccm pro Std.)	1. 1^{30}	10	36,6
										1. 3^{00}	10	36,6
4	1. 3^{37}	15	11,45	2,31	18,64	445	451	0,99	Versuchsperiode. Von 3^{10} bis 5^{00} Injektion von n/3-Citronensäure (2,2 g $C_6H_8O_7$ — 100 ccm 0,9 % NaCl.)			
5	1. 4^{00}	15	11,62	2,25	18,73	440	438	1,01		1. 4^{00}	10	36,5
6	1. 4^{25}	15	11,68	2,19	18,81	430	423	1,02		1. 5^{00}	20	36,0
7	1. 4^{45}	15	11,63	2,06	18,86	402	415	0,97	100 ccm = ca. 55 ccm pro Std.			
8	1. 5^{55}	15	7,01	2,70	17,44	318	442	0,72	Nachperiode. (0,9 % NaCl, ca. 55 ccm pro Std.)	1. 6^{00}	20	35,8
9	1. 8^{15}	15	7,11	2,85	17,38	342	454	0,75		1. 8^{15}	20	36,0
b)									9^{00} 2 g Urethan subcutan.	2. 6^{40}	?	35,4
10	2. 12^{30}	15	4,84	3,49	16,21	281	411	0,68	2. VII. Injektion während der Nacht. 37 ccm pro Std.	2. 10^{35}	?	35,4
11	2. 12^{53}	15	5,12	3,26	16,45	278	413	0,67	0,9 % NaCl, 37 ccm pro Std.	2. 12^{30}	45	35,3
12	2. 1^{15}	15	5,38	3,12	16,74	280	409	0,68		2. 1^{30}	20	35,2
									1^{35} Injektion von n/5-NaOH (Δ = ∸ 0,68). Kurz nach der Injektion wird die Respiration etwas schneller ungefähr 5 Minuten. Danach immer langsamer und das Tier stirbt ca. 2^{00}. Hat im ganzen ca. 15 ccm NaOH in 25 Minuten bekommen.			

Versuch XVI.

a) Einlauf von 0,9 % NaCl. 55 ccm pro Stunde. n/2 (= 5 %) Na_2CO_3. Der Stoffwechsel steigert sich um 5 % (stark vermehrte Diurese), hält sich während der Versuche (2 Stunden) konstant. Weiteres Steigen in der Nachperiode (12 %).

b) n/5-NaOH starker Fall: 20,5 %. Beim Nachversuch, 2 1/2 Stunden später, ist der Stoffwechsel wieder gestiegen und hat zufälligerweise eben dieselbe Höhe erreicht wie bei der ersten Versuchsperiode.

Tabelle XVI.

Nummer des Versuchstieres: 34. Körpergewicht 3200 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 6. VII. 6^{20} Injektion von 0,9% NaCl; ca. 23 ccm pro Std.	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
a)									7. VII. Einlauf während der Nacht. 55 ccm pro Std.	6. VII. 10^{05}	0	35,3
1	7. VII. 12^{15}	15	8,26	2,61	17,44	242	350	0,69	Vorversuch. 0,9% NaCl, 55 ccm pro Std.	7. 7^{00}	330	35,4
2	7. 12^{40}	15	10,02	2,28	18,08	257	344	0,75		7. 9^{20}	95	35,7
										7. 11^{40}	45	35,3
										7. 12^{40}	40	35,3
3	7. 1^{15}	15	7,79	2,20	17,21	192	365	0,53	Versuchsperiode. Von 1^{00} bis 2^{45} Injektion von n/2-Na_2CO_3 = 5%-100 ccm = 57 ccm pro Std.			
4	7. 1^{40}	15	8,39	1,89	17,61	178	354	0,50		7. 1^{45}	150	35,2
5	7. 2^{07}	15	9,02	2,03	17,66	206	370	0,56		7. 2^{45}	150	35,2
6	7. 2^{27}	15	10,90	1,88	18,18	183	371	0,49				
7	7. 4^{45}	15	10,44	2,43	17,88	285	384	0,74	Nachperiode (u. Vorversuch). (0,9% NaCl, ca. 55 ccm pro Std.)	7. 4^{50}	35	35,9
8	7. 5^{52}	15	10,87	2,35	17,93	287	393	0,73		7. 6^{00}	20	36,1
b)									Einlauf von n/2-NaOH von 6^{10} bis 7^{00} 50 ccm = 60 ccm pro Std.			
9	7. 6^{30}	15	10,37	1,77	18,51	206	308	0,67	6^{50} Harn blutig.	7. 6^{50}	5	36,0
10	7. 9^{03}	15	9,14	2,52	17,74	259	351	0,74	0,9% NaCl, ca. 60 ccm pro Std. 9^{20} ÷ Injektion. 8. VII. gestorben um 6 Uhr morgens. Sektion: nichts Besonderes.	7. 9^{05}	35 + Sanguis	35,9

Man sieht daraus, daß schwächere Konzentrationen oder weniger dissoziierte Lösungen von Säuren vielleicht erst eine Steigerung des Stoffwechsels (Versuche XIII und XIV) bewirken. Die Sauerstoffaufnahme sinkt aber bald gleichmäßig (Versuche XIII, XIV und XVa). In der Nachperiode, 1 bis 2 Stunden nach der Injektion, kann sie dann wieder bis zum normalen Standpunkt ansteigen (Versuche XIV und XVa).

Na_2CO_3 erhöht den Stoffwechsel (gesteigerte Diurese!); es trat während des 2 Stunden langen Versuches kein Abfall ein, und der Stoffwechsel nahm in der Nachperiode noch mehr zu (Versuch XVIa). Niedrige Diurese.

Inwiefern diese Steigerung bei der Eingabe von Säuren die „eigentliche Säurewirkung“, oder nur die Wirkung der augenblicklichen Reizung ist, oder ob die verdünnten Säuren tatsächlich den Stoffwechsel herabsetzen, läßt sich aus diesen Versuchen nicht entscheiden.

Die für Säuren und Alkalien charakteristische Veränderung des respiratorischen Quotienten sieht man sehr deutlich. Stark dissoziierte oder stärkere Konzentrationen von sowohl Säuren als Basen verursachen deutlich genug so eingreifende Veränderungen im Organismus des Kaninchens (Hämolyse usw. Versuche XIII, XVb und XVIb), daß die Sauerstoffaufnahme schnell und stark sinkt, wenn das Kaninchen dann nicht sofort stirbt (XVb).

Diese letzteren Wirkungen von Säuren und Alkalien stimmen ganz überein mit Leimdörfers Resultaten (diese Zeitschr. **59**, 451: Über den Einfluß der intravenösen Infusion von Säuren, alkalischen und Neutralsalz-Lösungen auf den respiratorischen Gaswechsel). Daraus scheint es mir aber nicht berechtigt, zu schließen, daß die Einspritzung von Säuren und Alkalien den Stoffwechsel herabsetzt. Betrachtet man nämlich die Wirkung, welche diese starken Lösungen in meinen Versuchen auf die Kaninchen haben (Hämolyse), so kann man daraus nur schließen, daß diese Lösungen zu den Versuchen nicht brauchbar sind. Daß die Sauerstoffaufnahme bei Injektion von Stoffen sinkt, die Hämolyse (und sicherlich viele andere eingreifende Veränderungen) hervorrufen, ist allerdings richtig, aber recht selbstverständlich und ohne Interesse.

Während der Injektion konnte Leimdörfer „öfters Zuckungen in verschiedenen Muskelgebieten beobachten“, und ferner schreibt er: „Blutzirkulation und Atmung schienen zumeist intakt zu sein, nur nach Zufuhr von größeren Mengen der höher konzentrierten Lösungen wurde die Atmung oberflächlicher, kleiner, setzte manchmal für Augenblicke gänzlich aus, dabei war der Cornealreflex erloschen. Wurde die Infusion jetzt abgestellt, erholte sich das Tier rasch, atmete wieder, bald auch in normalem Ausmaße, der Cornealreflex war wieder auszulösen.“ Bei diesem Zustand des Tieres hat L. ja sicherlich keine Respirationsproben entnommen; dies hätte ihn jedoch darauf aufmerksam machen können, daß die schroffen Abfälle der Sauerstoffaufnahme seiner Versuche (bei sauren Lösungen Versuch 2 ca. ÷ 40%, Nr. 3 ÷ 22%; Nr. 4 ÷ 25%, Nr. 6 ÷ 25%, Nr. 8 ÷ 10%; bei Alkalien Nr. 10 ÷ 37%, Nr. 14 ÷ 53% [19,41 ccm bis 9,48 ccm O_2], Nr. 7 ÷ 20%, Nr. 18

÷ 20%, Nr. 19 ÷ 10%, Nr. 21 ÷ 10%), agonale Erscheinungen sein könnten.[1])

Leimdörfers übrige Versuche weisen so inkonstante Resultate auf, daß daraus nichts Sichereres zu folgern ist, umsoweniger als er nur einen Vorversuch angestellt hat und somit nicht mit Sicherheit wissen kann, ob der Stoffwechsel eines jeden einzelnen Kaninchens im voraus konstant war.

In den Versuchen: saure Lösungen Nr. 1 und 7, alkalische Lösungen Nr. 11, 12, 16, 20 und Anfang von 21 Steigerung des Stoffwechsels. Dies deutet Leimdörfer als eine Folge der Muskelzuckungen. Dies ist möglich, ja wahrscheinlich, es könnte darin jedoch auch die eigentliche Wirkung von Säuren und Alkalien verborgen liegen (vergleiche meine Versuche), bevor sie die heftige Vergiftung hervorriefen.

Wie lange die Tiere nach den Versuchen lebten, ist nicht angegeben, auch finden sich keine Mitteilungen vom Harn, der Urethannarkose (die ja nicht hinreichend tief war) und der Temperatur (die Tiere waren nicht im Thermostaten, sondern gut mit Watte zugedeckt).

Da die Temperatur meiner Versuchstiere nach der Urethaneinspritzung (trotz der Verdeckung mit Watte) während der Stunde vor Eintritt der Narkose und Vollendung der Operation meist um ein paar Grad sank und erst nach ein paar Stunden Aufenthalt im Thermostaten wieder bis zur natürlichen Höhe stieg, dürfte eine Messung der Temperatur während der Versuche keineswegs überflüssig sein.

Neuere Versuche mit intravenöser Infusion von NaCl-Lösungen[2]) sind angestellt worden von Tangl (diese Zeitschr. **34**, 1: Die Arbeit der Nieren und die spezifisch dyn. Wirkung der Nährstoffe), Verzár (diese Zeitschr. **34**, 41: Die Wirkung

---

[1]) Chvostek (Centralbl. f. klin. Med. **1893**, 329: Der oxydative Stoffwechsel bei Säureintoxikation) fand bei Eingabe von Säuren per os an Kaninchen einen sehr niedrigen Stoffwechsel — namentlich wenn er „kurze Zeit vor Eintritt des Todes zu untersuchen Gelegenheit hatte", und die Temperatur des Tieres bis auf 32,7° gesunken war. Alle seine Versuchstiere befanden sich deutlich in der Agonie.

[2]) Versuche mit NaCl-Lösungen im Ventrikel sind angestellt worden von Mering und N. Zuntz (Arch. f. d. ges. Physiol. **15**, 634, 1877) und und Stech (N. Zuntz: Verdauungsarbeit und spez. dyn. Wirkung der Nahrungsmittel, Med. Klinik 1910, S. 309 und 351). M. und Z.s Versuche

intravenöser Kochsalzinfusionen auf den respiratorischen Gaswechsel) und von Leimdörfer.

Leimdörfer hat 3 Versuche mit urethanisierten Kaninchen angestellt. Er findet: Versuch 22 (2500 g) bei Einspritzung von 28 ccm 4% NaCl sinkt die O_2-Aufnahme um 7% (1. Stunde), bei fernerer Einspritzung von 43 ccm steigt die O_2-Aufnahme ein wenig (2. Stunde), um sodann (5 bis 6 Stunden später) bei Infusion von 79 ccm bis zur Hälfte vom ursprünglichen Werte zu sinken (÷ 55%).

Versuch 23 (2300 g) weist einen Abfall von 33% während der ersten Stunden bei Infusion von 64 ccm 4% NaCl auf, (keine Harnsekretion während des Versuches).

Versuch 24 (3100 g): Im Laufe von $1^1/_2$ Stunden keine Wirkung von 45 + 25 ccm 4% NaCl.

Da die Technik und die Aufschlüsse dieselben sind wie in den Versuchen mit sauren und alkalischen Lösungen, verlieren die Resultate bedeutend an Wert, und die Stoffwechselsteigerung, die Tangls, Verzárs und meine Versuche aufweisen, kommen vielleicht aus dem Grunde nicht zum Vorschein.

Tangl hat in seinen mit vorzüglicher Technik ausgeführten Versuchen an curarisierten Hunden, deren Nieren er exstirpierte, bei Einspritzung von 5% NaCl eine bedeutende Steigerung der Sauerstoffaufnahme erzielt:

Versuch XIV. 4600 g. Einspritzung von 115 ccm 5% NaCl, in 50 Minuten. Die Sauerstoffaufnahme steigt im Maximum 39%.

Versuch XV. 5800 g. 45 ccm in 50 Minuten. Steigerung im Maximum 15%.

Versuch XVI. 5400 g. 135 ccm in 32 Minuten. Steigerung im Maximum 23%.

Daraus schließt Tangl, daß NaCl, auch ohne die Nierenarbeit zu vermehren, den Stoffwechsel emportreiben kann.

Daß dies hauptsächlich durch die gesteigerte Herzarbeit verursacht sein sollte, leugnet er auf Grund seiner Versuche mit Harnstoff, der auch bei Eingabe in den Ventrikel eine wenn

---

(von 1877) weisen Steigerung der O_2-Aufnahme auf, sind aber der damaligen Versuchstechnik wegen nicht anstandslos. Stechs Versuche an Menschen und Hunden ohne Narkose weisen gleichfalls bei Eingabe per os Steigerung der O_2-Aufnahme auf. Nach einem Versuche von Lusk Journ. of phys. Chem. 18, 37) war NaCl ohne Einfluß auf den Stoffwechsel.

auch bedeutend geringere Steigerung des Stoffwechsels bewirkt (in 2 Versuchen XVII und XII + 5,6 % und + 3,8 % gegen + 34 % und + 8,3 %, in 2 anderen Versuchen XIII und VIII bei intravenöser Injektion). Dieser Unterschied bei Eingabe per os (wo noch Darmbewegung und Resorption dazu kommen) scheint mir aber so groß zu sein, daß die starke und plötzlich vermehrte Herzarbeit ihn wohl zu erklären vermag.

Geht man davon aus, daß NaCl sich wie der Harnstoff verhält, was auch am wahrscheinlichsten ist (siehe meinen Versuch mit Harnstoff Tabelle XVII), so kann man sich wohl die vermehrte Herzarbeit[1]) als Hauptursache der Stoffwechselsteigerung denken, so daß die NaCl-Wirkung sehr gering wird.

Tabelle XVII.

Harnstoffversuch.

Nummer des Versuchstieres: 9. Körpergewicht 3700 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 20 Min.)	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (reduziert) pro kg und Stunde CO_2	ccm (reduziert) pro kg und Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 16. III. Einlauf von 0,9 % NaCl; ca. 60 pro Std.	Harn Zeit	Harn ccm	Temp. °C
11	18. III. 1[40]	20	12,89	2,84	17,32	265	360	0,74	18. III. 2. Versuchstag. Vorversuch. (0,9 % NaCl, 60 ccm pro Std.	18. III. 9[00]	400	38,0
12	18. 2[10]	20	12,42	2,91	17,18	261	361	0,72		18. 2[30]	200	37,7
13	18. 3[30]	20	12,72	2,94	17,25	270	362	0,75	Versuchsperiode. Von 2[45] bis 4[35] Infusion v. Harnstoff (1,15 g Ur + 0,35 g NaCl, + 100 Wasser).	—	—	—
14	18. 4[15]	20	12,64	2,99	17,18	273	368	0,75		18. 5[00]	100	—

Es erübrigen noch Verzárs Versuche. Mit derselben Technik wie Tangl untersucht er den respiratorischen Stoffwechsel bei curarisierten Hunden während der Infusion von NaCl-Lösung. Bei 3 Versuchen mit 0,75 NaCl bekommt er:

Versuch IV 22 % Steigerung (150 ccm in 41 Minuten, 7267 g)
„ V 9 % „ (150 „ „ 44 „ , 4100 g)
„ VI 2 % „ (186 „ „ 66 „ , 6600 g)

Leider hat Verzár in den beiden ersten Versuchen vor der Infusion die Hunde zur Ader gelassen (um das Gefäßsystem nicht zu überfüllen) und ihnen so bedeutende Mengen von Blut entnommen (in Versuch IV 80 ccm = $^1/_5$ bis $^1/_7$ der gesamten

[1]) Der Blutdruck braucht dabei nicht höher zu sein als er normal ist. Tigerstedt: Der arterielle Blutdruck. Ergebnisse der Phys. 6, 125.

Blutmenge und Versuch V 65 ccm = $^1/_8$ bis $^1/_5$ der gesamten Blutmenge), daß man sicherlich nicht annehmen kann, daß der Stoffwechsel des Tieres gleich darauf normal gewesen sein sollte. Werden die beiden Versuche (die übrigens ähnliche Resultate aufweisen wie mein Versuch IXa) ausgeschaltet, so haben wir Verzárs Versuch VI übrig, der mit meinen Versuchen XIIa, c, d und e übereinstimmt, und in Übereinstimmung mit meinem Versuch IXa einen Versuch von Verzár Versuch I, wo er an einem Hunde von 2100 g 177 ccm 1 % NaCl-Lösung in 50 Minuten injiziert und eine Steigerung der Sauerstoffaufnahme von 22,5 % erhält.

Schließlich haben wir 2 Versuche von Verzár mit Infusion von 5 % und 10 % NaCl-Lösung.

Versuch II. 5200 g. Infusion von 130 ccm 5 % NaCl in 55 Minuten (= 1,26 g pro Kilogramm, 0,0227 pro Kilogramm und Minute). Steigerung von 43 %. Sehr reichliche Diurese.

Versuch III. 5650 g. 140 ccm 10 % NaCl in 50 Minuten (= 2,48 g pro Kilogramm, 0,0469 pro Kilogramm und Minute). Steigerung von 129 %. Die Sektion ergab seröse, hämorrhagische Flüssigkeiten im Darm, in den serösen Hohlräumen und dem subcutanen Gewebe.

So kolossale Steigerungen wie die beiden letzteren habe ich in keinem von meinen Versuchen erhalten, obgleich die injizierten NaCl-Mengen nicht so verschieden sind (in meinen Versuchen: VIb 0,025 g pro Kilogramm und Minute, VII 0,023 g pro Kilogramm und Minute, VIII 0,03 g pro Kilogramm und Minute, IX 0,025 g pro Kilogramm und Minute). Die Erklärung könnte vielleicht die sein, daß meine Versuche erst lange nach der Narkose und Operation angefangen wurden (in der Regel ca. 20 Stunden danach, nur bei Versuch IX, XI, XIII und XIV $4^1/_2$ bis 6 Stunden danach), zu welchem Zeitpunkt der Stoffwechsel wohl weniger labil ist als gleich nach der Narkose und Operation.

Um dies zu untersuchen, stellte ich (Versuch XVIII) einen Versuch mit Injektion von 9 % NaCl kurze Zeit nach der Narkose und Operation an. Der Versuch unterscheidet sich in keiner Beziehung von den früheren Versuchen: Erst eine Steigerung des respiratorischen Stoffwechsels von 9,5 %, sodann ein Abfall von 17,5 % 65 Minuten nach Injektion (60 ccm 9 % NaCl).

Tabelle XVIII.

Nummer des Versuchstieres: 35. Körpergewicht 2100 g.

Nr.	Beginn	Dauer Min.	Atemvolumen (Liter in 15 Min.)	Exspirationsluft		ccm (reduziert) pro kg und Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen 1. XII. Urethan (4,5 g) 10^{55}. Operation beendet 11^{55}. ÷ Einlauf.	Harn		Temp. °C
				CO_2 %	O_2 %	CO_2	O_2			Zeit	ccm	
1	1. XII. 12^{30}	15	7,44	2,60	17,58	336	465	0,72	Vorversuch. ÷ Injektion.	1. XII. 12^{30}	0	36,4
2	1. 12^{50}	15	7,62	2,59	17,60	343	474	0,72		1. 1^{20}	0	36,4
3	1. 1^{20}	15	8,00	2,42	17,88	336	454	0,74				
4	1. 1^{45}	15	9,42	2,41	18,01	394	509	0,77	Versuchsperiode. Von 1^{40} an Injektion von 9% NaCl, 55 ccm pro Std.	1. 2^{15}	[1]	
5	1. 2^{05}	15	8,65	2,43	17,89	365	488	0,75		1. 2^{30}	50	36,3
6	1. 2^{30}	15	7,39	2,47	18,10	317	382	0,83		1. 2^{45}	75	36,3
									3^{15} gestorben nach Injektion von 84 ccm (im ganzen). Sektion: nichts Besonderes.	1. 3^{15}	110	36,0

[1] Diurese beginnt.

In **Verzárs** Versuch II kann die sehr gesteigerte Diurese etwas von der Steigerung verursacht haben (**Barcroft** und **Brodie**); wenn dazu noch die Wirkung kommt, welche die plötzlich injizierte Lösung haben kann, wird die NaCl-Wirkung bedeutend beschränkt.

Die Steigerung von 129% in **Verzárs** Versuch III kann ich nicht erklären.

Merkwürdig ist es auch, daß der Stoffwechsel zu Ende der Stunde, die der Versuch III dauerte, nicht gesunken war, obgleich die Sektion beim Hunde so enorme Veränderungen aufwies. Daß Hunde sich anders verhalten sollten als Kaninchen, ist nicht wahrscheinlich. Näher liegt es anzunehmen, daß die Curarewirkung in **Verzárs** Versuchen sich bei der intravenösen Infusion von NaCl, während der die Ausscheidung etwas schneller vonstatten geht, etwas verlieren kann. Ob und um wieviel der Stoffwechsel zunimmt, bevor die fibrillären Zuckungen (welche die neue Injektion bedingen) sich zeigen, ist nicht nachgewiesen worden.

Daß der Stoffwechsel bei meinen urethanisierten Kaninchen „fester“ liegt, d. h. stabiler ist, zeigen alle meine Vorperioden, indem die größte Abweichung zwischen den einzelnen Versuchen der Vorperioden kleiner ist als 3% in allen Versuchen mit permanenter Infusion von 0,9% NaCl, nämlich IIIa 3%, b 1%, Va 3%, b 1%, VIa 2%, b 2%, VII 2%, VIII 1%, XIII 2%, XIV 1%, XVa 3%, b 1%, XVI 2% und XVII 0%.

In den Versuchen ohne permanente Injektion sind die Abweichungen ein paarmal etwas größer, nämlich IXa 2 $^0/_0$, b 1 $^0/_0$, X $< 4\,^0/_0$, XIa 2 $^0/_0$, b 8 $^0/_0$ (keine Harnsekretion ca. 40 Stunden), XIIa 5 $^0/_0$, c 1 $^0/_0$, e 3 $^0/_0$, XIII 1 $^0/_0$.

Vergleichshalber führen wir die Abweichungen zwischen Verzárs einzelnen Vorversuchen für sich an: Versuch I $< 4\,^0/_0$, II ca. 5 $^0/_0$, III 3 $^0/_0$, IV 14 $^0/_0$ (wird dessen erster Vorversuch, der sich vielleicht wegen Analysefehler weit von den folgenden unterscheidet, ausgesondert, haben wir 2 $^0/_0$), V $< 5\,^0/_0$.

Von Tangls Vorversuchen können diejenigen zum Vergleich herangezogen werden, die vor der Exstirpation der Nieren angestellt wurden, im ganzen 10 Versuche (1 bis 9 und 12); die maximalen Abweichungen der Vorversuche sind hier: Versuch 1 ca. 7,5 $^0/_0$, 2 ca. 9,5 $^0/_0$, 3 ca. 4 $^0/_0$, 4 $< 3\,^0/_0$, 5 $< 3\,^0/_0$, 6 ca. 4 $^0/_0$, 7 $< 1\,^0/_0$, 8 $< 4\,^0/_0$, 9 $< 4{,}5\,^0/_0$ und 12 ca. 5,5 $^0/_0$.

Es ist deutlich, daß der Stoffwechsel während der Urethannarkose weit regelmäßiger und konstanter ist (namentlich bei der permanenten Infusion von 0,9 $^0/_0$ NaCl) als bei den curarisierten Tieren, indem der maximale Ausschlag zwischen meinen Vorversuchen in 20 Fällen unter 3 $^0/_0$, in den übrigen 3 Fällen nur 4 $^0/_0$, 5 $^0/_0$ und 8 $^0/_0$ beträgt, wovon der letzte Versuch wegen ganz anomaler Verhältnisse beim Kaninchen (siehe Versuch XI) auszuschalten ist. Durchschnittlich unter 2 $^0/_0$ Differenz (bei Abzug von Versuch XI). In Tangls und Verzárs Versuchen beträgt die Differenz nur in 4 von 15 Versuchen weniger als 3 $^0/_0$, im Durchschnitt 4,5 $^0/_0$ (bei Abzug von Verzárs Versuch IV, der, wenn er mitgerechnet würde, die Durchschnittszahl auf 5,5 $^0/_0$ erhöhen würde, s. o.).

Noch eins deutet darauf, daß die urethanisierten Tiere während der Versuche natürlichere Verhältnisse aufwiesen als die curarisierten, nämlich der Umstand, daß die Kohlensäureausscheidung bei ihnen ungefähr in demselben Verhältnis zugenommen und abgenommen hat wie die Sauerstoffaufnahme, so daß der respiratorische Quotient sozusagen unverändert ist (außer in 2 Versuchen mit 9 $^0/_0$ NaCl: VIII Steigerung von CO_2/O_2 ohne besondere Vergrößerung des Respirationsvolumens und X Abfall von CO_2/O_2), während er in allen Versuchen bei Tangl und Verzár (mit Ausnahme von V.s Versuch V) während der NaCl-Infusion sank, was, wie Tangl und Verzár

bemerken, auf qualitative Veränderungen des Stoffwechsels deuten könnte.

In meinen beiden Versuchen VIII und X, wo ich einen veränderten respiratorischen Quotienten vorfand, sank die Temperatur während der Infusion von 9% NaCl 1/2 bis 1°, was vielleicht ein Zeichen von „Giftwirkung" ist. Die Diurese war in Versuch VIII stark gesteigert. (In Versuch X Unterbindung der Uretere.) Eine Temperatursteigerung, wie sie Verzár in den Versuchen II und III nachweist — übrigens eine häufig beobachtete NaCl-Wirkung („Kochsalzfieber") —, hat sich mir nicht ergeben. Dagegen habe ich oft Glucosurie (auch eine häufige NaCl-Wirkung[1]) beobachtet, die oft bei fortgesetzter Injektion schwand — ohne daß ich jedoch daraus Schlußfolgerungen zu ziehen vermochte.

In 5 von den Versuchen: Va und b, VIb, VIII und IXb habe ich untersucht, inwiefern bei den Versuchstieren eine Retention von NaCl vorlag, oder ob die NaCl-Ausscheidung im Harn einigermaßen mit der Zufuhr gleichen Schritt hielt.

Die Titrierung von NaCl fand nach Vollhardt statt.

Versuch Va, 4,5% NaCl.

Zeit	Einlauf	Harn		Bilanz
5.V. 10 bis 1	+ 1,08	÷ 0,97	=	+ 0,11 g NaCl
2 „ 3¹⁵ → 2 „ 3^{15}	+ 2,20	÷ 1,16	=	+ 1,04 g „
3^{15} „ 4^{15}	+ 0,72	÷ 1,08	=	÷ 0,36 g „
4^{15} „ 6^{15}	+ 0,54	÷ 1,17	=	÷ 0,63 g „
6^{15} „ 10^{40}	+ 1,17	÷ 1,21	=	÷ 0,04 g „
5.V. 10^{40} „ 6.V. 10^{00}	+ 4,59	÷ 4,76	=	÷ 0,17 g „
	in 24 Stunden insgesamt			+ 0,05 g NaCl

b) 4,5% NaCl.

Zeit	Einlauf	Harn		Bilanz
6.V. 11 bis 12	+ 1,08	÷ 0,92	=	+ 0,16 g NaCl
2 „ 3	+ 1,45	÷ 0,90	=	+ 0,55 g „
3 „ 4	+ 1,36	÷ 1,42	=	÷ 0,06 g „
4 „ 8	+ 1,44	÷ 1,55	=	÷ 0,11 g „
8 „ 11^{30}	+ 1,26	÷ 1,10	=	÷ 0,16 g „

also ca. 1/2 g retiniert.

[1]) Siehe z. B. Fischer, Arch. f. d. ges. Physiol. **106**, 80.

Versuch VIb, 9 % NaCl.

	Zeit	Einlauf	Harn		Bilanz
29. IV.	10 bis 11	+ 0,36	÷ 0,324	=	+ 0,036 g NaCl
	11 „ 12	+ 3,30	÷ 1,42	=	+ 1,88 g „
	12 „ 1	+ 1,44	÷ 1,90	=	÷ 0,46 g „
	1 „ 2	+ 0,36	÷ 0,72	=	÷ 0,36 g „
	2 „ 3	+ 0,36	÷ 0,67	=	÷ 0,31 g „

Hat also das meiste vom NaCl ausgeschieden und zu dem Zeitpunkt nur 3/4 g NaCl behalten.

Versuch VIII, 9 % NaCl.

	Zeit	Einlauf	Harn		Bilanz
15. V.	1 bis 2^{15}	+ 5,58	÷ 3,08	=	+ 2,50 g NaCl
	2^{15} „ 4	+ 0,79	÷ 1,32	=	÷ 0,53 g „
	4 „ 7	+ 1,35	÷ 2,28	=	÷ 0,93 g „
	7 „ 11^{50}	+ 2,20	÷ 1,10	=	+ 1,10 g „
15. V.	11^{50} „ 16. V. 6^{50}	+ 3,15	÷ 3,20	=	÷ 0,05 g „

ca. 2 g NaCl retiniert.

Versuch IXb ÷ Injektion im Vorversuch, 9 % NaCl.

	Zeit	Einlauf	Harn		Bilanz
25. V.	11^{00} bis 26. V. 11^{30}	+ 0	÷ 0,16	=	÷ 0,16 g NaCl
	11^{45} „ 12	+ 1,47	÷ 0,58	=	+ 0,89 g „
	12 „ 1	+ 3,48	÷ 2,03	=	+ 1,45 g „

Harnsekretion aufgehört. Ca. 2 1/4 g NaCl retiniert.

Zusammenfassung.

1. Bei einer in der rechten Weise ausgeführten Urethannarkose können Kaninchen 2 bis 3 Tage nacheinander zu Respirationsversuchen benutzt werden. Der Stoffwechsel ist sehr konstant, schwankt im Laufe von 1 bis 2 Stunden durchschnittlich ca. 2 %. Die Nierensekretion leidet nicht durch die Urethannarkose.

2. Plötzliche intravenöse Injektion von physiologischer NaCl-Lösung kann eine Steigerung des respiratorischen Stoffwechsels bewirken.

3. Zur Untersuchung der Wirkung verschiedener Lösungen auf den respiratorischen Stoffwechsel kann man bei permanenter Infusion von physiologischer NaCl-Lösung vor der Infusion der zu prüfenden Lösung die plötzliche Überfüllung des Gefäßsystems und somit deren Wirkung auf den Stoffwechsel verhindern. Die Arbeit des Herzens und der Nieren wird konstant erhalten, und

der Stoffwechsel ist stabiler während der permanenten Infusion als sonst.

4. Infusionen von NaCl-Lösungen bewirken eine Steigerung des respiratorischen Stoffwechsels; bei stärkeren Konzentrationen sinkt der Stoffwechsel bald, wahrscheinlich wegen einer Giftwirkung auf die Zellen und des hohen osmotischen Druckes. Die Stoffwechselsteigerung ist in der Regel von gesteigerter Harnsekretion begleitet. Alles NaCl ist wenige Stunden nach der Injektion ausgeschieden, nur bei starken Konzentrationen wird etwas retiniert. Vielleicht bedingen diese NaCl-Ausscheidung und die gesteigerte Ausscheidung von Flüssigkeit die Stoffwechselsteigerung.

5. Na_2CO_3 steigert die Sauerstoffaufnahme (Diureticum!); dasselbe scheinen Säuren sofort zu tun, bald darauf sinkt aber der respiratorische Stoffwechsel (Vergiftung?). Konzentrationen wie $^n/_5$-NaOH und $^n/_6$-HCl können jedenfalls zu intravenösen Injektionen nicht gebraucht werden (starker Abfall des Stoffwechsels, Hämolyse, Vergiftung, Mors!).

Über die Alkoholoxydation durch die Samenpflanzen.

Von

W. Zaleski.

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 24. Juli 1914.)

Die Theorie des genetischen Zusammenhanges der intramolekularen mit der normalen Atmung erklärte in verschiedener Weise die Alkoholabwesenheit in den Samenpflanzen bei normalen Bedingungen, richtiger gesagt, bei guter Aeration.

Zuerst wurde angenommen, daß Alkohol ein Zwischenprodukt der Atmung ist, der durch die Pflanzen unter normalen Bedingungen oxydiert oder verarbeitet wird. Nach dieser Annahme stellt die Alkoholgärung die Anfangsstufe der Zuckerspaltung in den Samenpflanzen dar. Später hat Godlewski [1]) die Meinung ausgesprochen, daß die Samenpflanzen Zucker unter der Bildung noch unbekannter Zwischenprodukte spalten, die teils durch Sauerstoff oxydiert, teils aber zur Bildung von neuen Baustoffen verwertet werden. Daher bilden die Samenpflanzen unter normalen Bedingungen keinen Alkohol. Wenn aber die Pflanzen eine ungenügende Sauerstoffmenge zur Verfügung haben, so werden diese Zwischenprodukte unter CO_2- und Alkoholbildung vergoren. Die Versuche von Mazé [2]) sprechen zugunsten der Annahme, daß Alkohol kein Zwischenprodukt der Atmung ist, da die Samenpflanzen diesen nicht verbrauchen. So hat der Verfasser nachgewiesen, daß der größte Teil des von den Fliederzweigen aufgenommenen Alkohols durch Transpiration abgegeben und nur eine geringe Menge desselben zur Esterbildung verwendet wurde.

---

[1]) Godlewski, Bull. de l'Acad. de Cracovie **1904**, 138.

[2]) Mazé und Perrier, Annales de l'Inst. Pasteur **18**, 1904.

Weiter versuchte Kostytschew[1]) die Ansicht von Godlewski experimentell zu beweisen. Der Verfasser hatte gezeigt, daß die Weizenkeime und Weizensamen Alkohol nicht verbrauchen. Nur die abgeschälten Erbsensamen haben nach Kostytschew den durch sie vorher (im Wasserstoff) gebildeten Alkohol verbraucht. Dennoch fand auch in diesem Falle keine vollständige Alkoholoxydation statt und die Atmungsenergie (CO_2-Bildung) wurde nicht gesteigert. Auf Grund dieser Versuche behauptet Kostytschew, daß Alkohol kein Zwischen-, sondern nur ein Nebenprodukt der Zuckeroxydation in den Samenpflanzen ist und unter normalen Bedingungen durch diese nicht gebildet wird. Der Verfasser vermutet, daß nur die intermediären Produkte der Zymasegärung der Sauerstoffoxydation unterliegen.

Unserer Meinung nach ist die Frage über die Alkoholoxydation durch die Samenpflanzen noch nicht gelöst, und wir haben uns die Aufgabe gestellt, diese näher zu erforschen.

Zuerst wurden unsere Versuche mit den lebenden Pflanzen ausgeführt. Die Objekte wurden in 0,5 bis 1 $^0/_0$iger Alkohollösung 24 bis 48 Stunden lang kultiviert. Die Lösungen wurden während des Versuches mehrmals gewechselt und nach Verlauf des Experimentes wurden die Pflanzen mit destilliertem oder sterilem Wasser ausgewaschen und unvollständig mit Fließpapier abgetrocknet. In anderen Fällen wurden die Pflanzen nur dann zu den Versuchen genommen, nachdem sie durch vorherigen Aufenthalt im Vakuum oder im Wasserstoff eine gewisse Alkoholmenge aufgespeichert hatten. In beiden Fällen wurden die Objekte in zwei gleiche Portionen geteilt. Eine dieser Portionen (Kontrollportion) wurde zur Alkoholbestimmung benutzt, die andere aber wurde in einen großen Kolben (von 3 bis 4 l Inhalt) eingebracht. In diesem Kolben wurde ein Gläschen mit Kaliumhydroxydlösung zur CO_2-Absorption eingehängt; dann wurde das Gefäß mit einem Pfropfen luftdicht verschlossen. Nach Verlauf des Versuches (22 bis 24 Stunden) wurde auch diese Portion (Versuchsportion) zur Alkoholbestimmung genommen. Diese Versuche wurden also nicht bei tadelloser Aeration ausgeführt, um jeden Alkoholverlust zu ver-

[1]) Kostytschew, diese Zeitschr. 15, 165.

meiden, der bei der Luftdurchleitung oder beim Herausnehmen der Objekte aus den Versuchskolben stattfinden kann. Zum Vergleich haben wir auch die Versuche mit der Luftdurchleitung ausgeführt. In diesem Falle wurden jeweils hinter dem Kolben zwei Drechselflaschen mit destilliertem Wasser eingeschaltet, die während des Versuches in schmelzendes Eis gestellt waren, um den Alkohol zu absorbieren. Der Kürze wegen führen wir diese Versuche nicht an, da sie dieselben Resultate nur noch deutlicher ergeben. Die Alkoholdestillation wurde bei saurer und dann bei alkalischer Reaktion ausgeführt und der Alkohol wurde pyknometrisch bei 15,5° und zum Vergleich nach der Methode von Nicloux bestimmt. In einigen Fällen gibt diese Methode höhere Zahlen als die pyknometrische Bestimmung.

Versuch 1.

90 g der Stengelspitzen der etiolierten Keimpflanzen von Vicia Faba Windsor wurden auf 1%iger Alkohollösung 24 Stunden lang im Dunkeln kultiviert. Die Spitzen schwammen auf den Lösungen, die sich in sehr großen Krystallisierschalen befanden, die während des Versuches mit dünnen Glasscheiben bedeckt waren. Die Lösungen wurden während des Versuches zweimal gewechselt. Dann wurden die Spitzen aus der Lösung herausgenommen, gut mit sterilem Wasser ausgewaschen, unvollständig mit Fließpapier abgetrocknet und in zwei gleiche Portionen geteilt. Versuchsdauer 24 Stunden.

	Äthylalkohol	
	pyknometrisch mg	nach Nicloux mg
Kontrollportion . . .	530	587,4
Versuchsportion . . .	420	428,6

Versuch 2.

Die Stengelspitzen der etiolierten Keimpflanzen von Vicia Faba Windsor wurden auf 1%iger Alkohollösung in der oben beschriebenen Weise (Versuch 1) kultiviert. Nach 24 Stunden wurden die Spitzen in zwei Portionen zu je 60 g geteilt. Versuchsdauer 24 Stunden.

	Alkohol	
	pyknometrisch mg	nach Nicloux mg
Kontrollportion . . .	240	257,9
Versuchsportion . . .	70	71,4

Versuch 3 und 4.

Die Achsenteile der etiolierten Keimpflanzen von Lupinus albus wurden 24 Stunden lang auf Alkohollösung im Dunkeln kultiviert. Dann wurden die Keime in zwei Portionen zu je 50 g geteilt. Versuchsdauer 24 Stunden.

	Alkohol			
	pyknometrisch		nach Nicloux	
	mg	mg	mg	mg
Kontrollportion . . .	180	180	174,4	185
Versuchsportion . . .	73	73	71,4	84

Versuch 5.

Die Achsenteile der etiolierten Keimpflanzen von Lupinus albus wurden 24 Stunden lang auf Alkohollösung im Dunkeln kultiviert. Dann wurden die Keime in zwei Portionen zu je 35 g geteilt. Versuchsdauer 24 Stunden.

	Alkohol nach Nicloux mg
Kontrollportion	111,0
Versuchsportion	31,7

Versuch 6.

100 g der Samen von Medicago sativa wurden in 1%iger Alkohollösung 2 Tage lang eingeweicht. Die Lösungen wurden während des Versuches mehrmals gewechselt und die Samen mit Wasser ausgewaschen. Nach Verlauf dieser Zeit wurden die Samen aus der Lösung herausgenommen, gut mit sterilem Wasser ausgewaschen und in zwei gleiche Portionen geteilt. Versuchsdauer 24 Stunden.

	Alkohol pyknometrische Bestimmung mg
Kontrollportion	370
Versuchsportion	260

Versuch 7.

Die Weizensamen wurden 2 Tage lang im Wasser eingeweicht, gut mit sterilem Wasser ausgewaschen und auf 8 Stunden ins Vakuum gebracht. Nach Verlauf dieser Zeit wurden die Samen nochmals mit sterilem Wasser ausgewaschen und in zwei Portionen zu je 120 g geteilt. Versuchsdauer 24 Stunden.

	Alkohol nach Nicloux mg
Kontrollportion	68,4
Versuchsportion	23,8

Versuch 8.

Die Weizensamen wurden 2 Tage im Wasser eingeweicht, gut mit destilliertem Wasser ausgewaschen und 8 Stunden lang im Wasserstoff belassen. Dann wurden die Samen sorgfältig mit Wasser ausgewaschen und in zwei Portionen zu je 240 g geteilt. Versuchsdauer 24 Stunden.

	Alkohol	
	pyknometrisch	nach Nicloux
	mg	mg
Kontrollportion . . .	135	134,9
Versuchsportion . . .	50	63,5

Obwohl an der Aeration in unseren Versuchen nichts auszusetzen war, wurde dennoch Alkohol durch die Samenpflanzen verbraucht. Auch können wir die Versuche von Kostytschew nicht bestätigen, daß die Weizensamen Alkohol nicht verbrauchen. In unseren Versuchen wurden 27 bis 72% des von verschiedenen Pflanzen aufgenommenen oder vorher im Vakuum gebildeten Alkohols oxydiert. Ob in diesem Falle der Alkohol vollständig verbrannt oder unter der Bildung der organischen Säuren oxydiert wird, das kann man vorläufig nicht entscheiden. Diese Frage kann man auch nicht durch die Bestimmung der CO_2-Ausscheidung lösen.

Obwohl die Samenpflanzen Alkohol oxydieren können, können wir dennoch zurzeit keinen bestimmten Schluß aus unseren Versuchen ziehen. Es wäre voreilig zu behaupten, daß Alkohol ein Zwischenprodukt der Atmung ist, daß also die Pflanzen auch bei normalen Bedingungen Alkohol bilden und diesen in statu nascendi oxydieren. Die Entscheidung dieser Frage müssen wir künftigen Untersuchungen überlassen.

Jetzt wollen wir noch bemerken, daß die abgetöteten Objekte bei den Bedingungen der oben angeführten Versuche (im geschlossenen Kolben) Alkohol nicht verbrauchen. Zwar haben wir eine bedeutende Abnahme des Alkohols in den abgetöteten Weizensamen und den Stengelspitzen beobachtet [1]), dennoch wurden diese Versuche bei den besseren Aerationsbedingungen ausgeführt. Vorläufig können wir nicht entscheiden, ob in diesem Falle Alkohol tatsächlich durch die abgetöteten Pflanzen oxydiert wurde oder ob in diesen Versuchen ein Alkoholverlust stattfand. Dennoch vermute ich, daß die Samenpflanzen Alkoholoxydase enthalten.

[1]) W. Zaleski und A. Reinhard, diese Zeitschr. 42, 39, 1912.

Beiträge zur Kenntnis der Eiweißumwandlung in der Hefe.

II. Über den Einfluß des Mediums auf den Eiweißabbau der Hefe.

Von

W. Zaleski und W. Schataloff.

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 24. Juli 1914.)

In der vorigen Mitteilung[1]) haben wir über den Einfluß der Aldehyde auf den postmortalen Eiweißabbau der Hefe berichtet. Jetzt wollen wir die Wirkung anderer Substanzen auf die Proteolyse der Hefe verfolgen. Auch in dieser Arbeit haben wir zunächst zu erforschen, ob und in welcher Weise die Abbauprodukte des Zuckers und die der Aminosäuren die Arbeit der proteolytischen Fermente der Hefe beeinflussen, ob also ein gewisser Zusammenhang zwischen den Gärungsprozessen und der Eiweißumwandlung besteht. Zum Vergleich haben wir auch den Einfluß einiger anderer chemisch verwandter Stoffe auf diesen Prozeß untersucht.

Zu unseren Versuchen haben wir, wie früher, Hefanol genommen. Die Erlenmeyer-Kölbchen wurden mit einer bestimmten Menge Wasser, und parallel hierzu mit einer solchen Quantität einer bestimmten Lösung unter Toluolzusatz (4 bis 5 $^0/_0$) beschickt. In jedes Kölbchen wurde eine bestimmte Menge von Hefanol gebracht. Dann wurden die Gefäße mit Pfropfen verschlossen. Die Versuchstemperatur betrug, wenn keine besonderen Angaben gemacht sind, stets 35^0. Der Gesamtstickstoff wurde nach Kjeldahl, der Eiweißstickstoff nach Stutzer bestimmt.

---

[1]) W. Zaleski und W. Schatoloff, diese Zeitschr. **55**, 63, 1913.

Die Wirkung der Alkohole und Phenole auf die Hefeproteolyse.

Versuch 1.

12 Hefanolportionen[1]) zu je 0,5 g wurden mit je 10 ccm Wasser und den unten bezeichneten Lösungen versetzt. Autolysedauer 20 Stunden.

	Eiweiß-N mg[2])
Wasser	15,5
Methylalkohol 5%	17,3
Äthylalkohol 5%	18,5
Isobutylalkohol 5%	20,0
Isoamylalkohol 5%	17,9
Allylalkohol 5%	19,2

Versuch 2.

6 Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit je 10 ccm der unten bezeichneten Lösungen versetzt. Autolysedauer 67 Stunden.

	Eiweiß-N mg
Wasser	9,1
Isoamylalkohol 4%	10,8
Benzylalkohol 4%	18,5

Versuch 3.

6 Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit je 10 ccm der unten bezeichneten Lösungen versetzt. Autolysedauer 20 Stunden.

	Eiweiß-N mg
Wasser	15,5
Phenol 0,5%	16,9
„ 1,0%	17,9

Versuch 4.

4 Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit je 10 ccm Wasser und 0,5% Phloroglucin versetzt. Autolysedauer 3 Tage.

	Eiweiß-N mg
Wasser	8,7
Phloroglucin 0,5%	14,1

Die nachteilige Wirkung einwertiger Alkohole der aliphatischen Reihe auf die Hefeproteolyse kann sich bei Konzentrationen von mehr als 4% bemerkbar machen[3]). Die aromatischen Alko-

[1]) Das Präparat enthält 7,10% Eiweißstickstoff.

[2]) Alle in den Versuchen angeführten Zahlen stellen Mittel von Doppelbestimmungen dar.

[3]) Für einige Alkohole sind diese Lösungen mehr als konzentriert.

hole wirken nachteiliger, und noch mehr wird die Arbeit der proteolytischen Fermente durch Phenole vermindert. Nach Palladin[1]) halten einige Phenole, wie Resorcin und Brenzkatechin, die Hefeproteolyse auf, aber nicht so beträchtlich, wie Phloroglucin in unseren Versuchen.

Einige der von uns benutzten Alkohole[2]) stellen die Produkte der Vergärung der Aminosäuren dar und sind in der Gärungsflüssigkeit vorhanden, aber in einer solchen Menge, die keinen Einfluß auf die Proteolyse hat, wie unsere Versuche zeigen. Andere Alkohole und Phenole werden durch die Hefe nicht gebildet. Es ist klar, daß nur Äthylalkohol, der sich während der Gärung in einer großen Menge bildet, auf die proteolytische Fermente nachteilig wirken kann.

Der Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Hefeproteolyse.

Nach Hahn[3]) wird das proteolytische Ferment der Hefe, die sogenannte Endotryptase, in schwach saurer Lösung begünstigt und in neutraler oder schwach alkalischer gehemmt. Ammonium und Kaliumhydroxyd entsprechen sich in ihrer Wirkung, während Natriumcarbonat weniger nachteilig wirkt. Das Optimum der Säurewirkung entspricht 0,2 % Salzsäure, und in äquimolekularer Lösung wirkt Essigsäure günstiger als die Salzsäure auf die Proteolyse. In betreff der Alkalien wurden diese Angaben durch Navassart[4]) bestätigt, der nachgewiesen hat, daß die Proteolyse der Hefe durch 0,2 %ige Natriumcarbonatlösung herabgesetzt und bei der Konzentration von 0,4 % gehemmt wird. Die Säuren befördern aber nach Navassart die Hefeproteolyse nicht. So wirkt die Salzsäure in keinem Falle günstig, und eine 0,1375 %ige Lösung derselben hemmt die Eiweißzersetzung vollständig. Weiter beobachtete N. Iwanoff[5]), daß die primären Phosphate die Hefeproteolyse befördern, die sekundären sie aber nachteilig beeinflussen.

Im nachfolgenden sind die Versuche beschrieben.

---

[1]) Palladin und seine Mitarbeiter, diese Zeitschr. **44**, 318, 1912.

[2]) Isoamylalkohol bildet den Hauptanteil des Fuselöls, Isobutylalkohol bildet sich durch die Hefe aus Valin.

[3]) E. Buchner, H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903.

[4]) Navassart, Zeitschr. f. physiol. Chem. **70**, 189, 1910.

[5]) N. Iwanoff, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 230, 1913.

Versuch 5.

12 Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit je 10 ccm Wasser und 1% $KHSO_4$ versetzt.

Autolysedauer Tage	Eiweiß-N in Proz. des Gesamt-N Wasserportion	Phosphatportion
1	50,28	38,40
2	28,57	22,40
3	19,43	19,43

Versuche 6 bis 11.

Mehrere Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit je 10 ccm der unten bezeichneten Lösungen versetzt. Autolysedauer 20 bis 24 Stunden.

			Eiweiß-N Versuchsportion mg	Kontrollportion mg
Salzsäure	0,005 %	1/720 n . .	15,2	15,4
"	0,010 %	1/365 n . .	14,5	14,9
"	0,060 %	1/60 n . .	13,6	13,7
"	0,160 %	1/23 n . .	19,8	15,0
"	0,200 %	1/18 n . .	25,5	15,0
Phosphorsäure	0,080 %	1/41 n . .	12,8	13,8
"	0,140 %	1/23 n . .	12,7	15,0
Ameisensäure	0,005 %	1/920 n . .	15,6	15,5
"	0,020 %	1/230 n . .	14,5	15,0
"	0,200 %	1/23 n . .	17,0	15,0
Essigsäure	0,020 %	1/300 n . .	13,7	15,0
"	0,150 %	1/40 n . .	7,5	7,1
"	0,260 %	1/23 n . .	11,8	15,0
Oxalsäure	0,070 %	1/64 n . .	10,8	13,7
"	0,110 %	1/41 n . .	10,8	13,7
"	0,500 %	1/9 n . .	28,4	15,0
Milchsäure	0,070 %	1/128 n . .	12,5	13,7
"	0,210 %	1/42 n . .	12,0	13,7
"	0,260 %	1/34 n . .	14,1	15,0
"	0,320 %	1/28 n . .	13,6	13,7
"	0,340 %	1/27 n . .	10,7	7,4
Brenztraubensäure	0,260 %	1/34 n . .	14,0	15,0
"	0,360 %	1/24 n . .	14,1	6,4
Citronensäure	0,050 %	1/128 n . .	10,3	12,5
"	0,250 %	1/28 n . .	11,1	12,4
"	0,500 %	1/13 n . .	14,8	15,0

Versuch 12.

Etliche Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit je 10 ccm Wasser und den unten bezeichneten Lösungen versetzt. Autolysedauer 40 bis 45 Stunden.

			Eiweiß-N in Milligramm Versuchsportion	Kontrollportion
Neutralisation auf Lackmus		. . . . .	16,3	10,7
Natriumhydroxyd	0,10%	1/40 n . . .	23,3	10,8
Natriumcarbonat	0,13%	1/37 n . . .	20,8	10,7
Ammoniak	0,04%	1/42 n . . .	18,0	10,7
"	0,10%	1/17 n . . .	30,4	10,8
Äthylamin	0,11%	1/41 n . . .	16,0	10,8
Diäthylamin	0,18%	1/40 n . . .	21,4	10,8

Versuch 13.

7 Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit je 10 ccm Wasser und den unten bezeichneten Lösungen versetzt. Autolysedauer 67 Stunden.

		Eiweiß-N mg
Wasser	. . . .	9,0
Diäthylamin	0,2 %	35,5
Trimethylamin	0,2 %	31,1
Cholin	0,2 %	12,9
Piperidin	0,2 %	26,2
Pyrrol	0,2 %	8,8
Natriumhydroxyd	0,1 %	27,7

Die primären Phosphate befördern die Hefeproteolyse, dennoch können wir N. Iwanoff[1]) nicht beistimmen, daß sie auch einen stärkeren Eiweißabbau verursachen, der in der Wasserportion trotz der Verlängerung des Versuches nicht erreicht wird. Unsere Versuche zeigen, daß schon nach 2tägiger Autolyse Wasser- und Phosphatportion eine gleiche Eiweißmenge enthalten. Die Proteolyse wird durch die primären Phosphate nur beschleunigt.

Die proteolytischen Fermente der Hefe wirken am besten bei schwach saurer Reaktion. Dennoch wirken die Säuren verschieden und vermutlich spezifisch. So konnten wir keine Beförderung der Eiweißzersetzung durch die Wirkung der Salz- und Ameisensäure hervorrufen. So üben diese Säuren in sehr schwachen Konzentrationen, wie $^1/_{920}$ bis $^1/_{60}$ n keine Wirkung auf die Arbeit der proteolytischen Fermente aus und über diese hinaus ($^1/_{23}$ n) wirken sie nachteilig. Wenn nach Hahn die Salzsäure und sogar in 0,2 %iger Lösung die Proteolyse befördert, so erklärt sich dies vielleicht dadurch, daß er mit dem Hefepreßsafte experimentierte und nicht die Gesamtmenge der Eiweißstoffe, sondern nur das Koagulierbare bestimmte. Von den Eiweißstoffen der Hefezellen wird durch das Preßverfahren der vierte Teil in Lösung gebracht. In diesem Falle handelt es sich also um verschiedene Eiweißstoffe oder verschiedene proteolytische Fermente. Demgegenüber wirken andere Säuren (Phosphor-, Oxal-, Milch-, Brenztrauben-, Essig- und Citronensäure) bis zu einer gewissen Konzentration günstig, über diese hinaus hemmend. Beim Fortschreiten der Autolyse wird die günstige Wirkung dieser Säuren vermindert, und das erklärt sich durch

[1]) N. Iwanoff, l. c.

die Vermehrung der Acidität während der Autolyse[1]). Unsere Versuche zeigen, daß zwischen der Acidität und der Proteolyseenergie kein Zusammenhang besteht. Obwohl die Konzentration der H-Ionen in unseren Versuchen unbekannt ist und das Medium ein sehr kompliziertes Gemisch verschiedener Substanzen darstellt. Dennoch finden wir keinen Zusammenhang zwischen der Konzentration der H-Ionen und der Arbeit der proteolytischen Fermente.

Einige der von uns benutzten Säuren werden während der Gärung gebildet und stellen vermutlich die Nebenprodukte der Zucker- und Aminosäurenvergärung dar. So wurden in der Gärflüssigkeit Ameisen-[2]) und Essigsäure[3]) in einer nicht unbeträchtlichen Menge gefunden. Weiter soll nach Oppenheimer[4]) Milchsäure in dem Macerationssafte vorkommen. Diese Säuren könnten die Proteolyse beeinflussen.

Im Gegensatz zu den Säuren wirken die Alkalien nachteilig auf die autolytische Eiweißzersetzung in der Hefe, da schon durch die Neutralisation der Autolyseflüssigkeit die Proteolysenenergie vermindert wird. Wir können die Angaben von Hahn nicht bestätigen, daß Ammonium- und Kaliumhydroxyd gleich stark auf die Proteolyse wirken. Durch die Alkalienbildung kann man auch die nachteilige Wirkung derjenigen Salze erklären, deren Säuren während der Autolyse vergoren werden. So z. B.

Versuch 14.

8 Hefanolportionen zu je 0,5 g wurden mit je 10 ccm Wasser und den unten bezeichneten Lösungen versetzt. Autolysedauer 4 Tage.

		Eiweiß-N mg
Wasser		7,4
Ameisensaures Natrium	1 %	6,8
Milchsaures „	1 %	7,8
Brenztraubensaures Natrium	1 %	20,5

Brenztraubensaures Natrium wirkt sehr nachteilig auf die Proteolyse, da durch die Vergärung der Säure die Flüssigkeit

[1]) Während der Autolyse wird die Phosphorsäure durch die Zersetzung der organischen Phosphorverbindungen gebildet.

[2]) Franzen und Stepphuhn, Zeitschr. f. physiol. Chem 77, 129.

[3]) Thomas, Compt. rend. 186, 1015.

[4]) Oppenheimer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 89.

stark alkalisch wird. Demgegenüber üben milch- und ameisensaures Natrium keine Wirkung auf diesen Prozeß aus. Auf diese Weise kann man indirekt die Vergärung verschiedener Säuren durch die Hefe verfolgen.

Die Wirkung verschiedener Substanzen auf den Charakter des Eiweißabbaues der Hefe während der Autolyse.

Der Abbau der Eiweißstoffe geht stufenweise vor sich und wird durch die Zusammenwirkung verschiedener Fermente ausgeführt. Man kann daher erwarten, daß dieser Abbau unter wechselnden Bedingungen nicht immer in gleichen Bahnen erfolgt, da die Fermente nicht gleichmäßig beeinflußt werden. Wir haben einige Versuche ausgeführt, um die Wirkung verschiedener Substanzen auf die quantitativen Verhältnisse zwischen den Eiweißabbauprodukten zu verfolgen. Diese Versuche wurden in der oben beschriebenen Weise nur mit einer größeren Hefanolmenge angestellt. In diesem Falle wurde das Filtrat des Kupferoxydniederschlages mit Bleiessig versetzt. Der so erhaltene Niederschlag, der Peptone und Albumosen enthält, wurde vorsichtig ausgewaschen und nach Kjeldahl verbrannt. Das Filtrat des Bleiessigniederschlages wurde zur Ammoniakbestimmung benutzt. In anderen Fällen wurde die Autolyseflüssigkeit direkt zur Ammoniakbestimmung genommen. Das Ammoniak[1]) wurde durch Destillation mit Magnesia unter vermindertem Druck (10 bis 15 mm) bei 40 bis 45^{0} bestimmt. Die organischen Basen wurden aus eiweiß-, pepton- und ammoniakfreien Filtraten mit Phosphorwolframsäure in üblicher Weise abgeschieden und dann wurde der Niederschlag vorsichtig ausgewaschen und nach Kjeldahl verbrannt. Der Stickstoff aller Verbindungen wurde in Prozenten des Gesamtstickstoffes berechnet. In einigen Fällen haben wir auch den Aminosäurenstickstoff bestimmt. Wir führen diese Zahlen jetzt nicht an.

Diese Versuche sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

[1]) Während der Autolyse der Hefe wurden auch Amine gefunden. In letzter Zeit hat Iwanoff (diese Zeitschr. 58, 217) Isoamylamin gefunden. Es ist unbekannt, ob diese Versuche unter sterilen Bedingungen ausgeführt worden waren, da der Verfasser eine sehr große Hefanolmenge autolysiert hat.

Vom Gesamtstickstoff entfallen auf:

	Autolysedauer	Eiweiß-N %	Pepton-N %	NH_3-N %	Basen-N %
Hefanol	—	81,14	4,57	—	—
Wasserportion	24 Std.	37,71	9,26	4,68	7,42
Resorcin 1/2 %	24 "	33,60	6,86	1,94	8,96
Alloxan 1/2 %	24 "	32,91	9,26	3,31	9,60
Kaliumjodid 5 %	24 "	18,29	8,57	1,84	8,80
Wasserportion	2 Tage	28,57	4,60	5,14	7,55
KH_2PO_4 1 %	2 "	22,40	9,95	5,40	5,15
Citronensäure 0,1 % . . .	2 "	21,95	4,60	6,30	5,15
Saccharose 15 %	2 "	48,09	4,57	6,50	5,48
Wasserportion	4 "	17,14	4,11	4,57	—
Natriumhydroxyd 0,08 %	4 "	28,57	5,14	5,03	6,40
Wasserportion	10 "	24,00	3,00	4,00	—
"	1 Jahr	11,17	5,10	4,42	—

Nach der Autolyse finden wir 5 bis 6 % des Eiweißstickstoffes in Form von Ammoniak, was schon früher Schütz[1]) beobachtete und später Palladin und Iwanoff[2]) bestätigt haben. Diese Zahlen weichen nicht sehr von denjenigen ab, die wir durch Zersetzung der Hefanoleiweißstoffe durch Kochen mit starken Säuren bekommen haben. So z. B.:

Vom Stickstoff der Eiweißstoffe entfallen auf:

Ammoniak-N . . .	7,38 %	8,75 %
Diamino-N . . .	13,07 %	11,85 %
Monoamino-N . .	79,00 %	79,40 %

Bei der Verdauung der Hefanoleiweißstoffe durch Pepsin und Salzsäure haben wir je 4,10 % Stickstoff in Ammoniakform gefunden.

Die primären Phosphate üben keinen Einfluß auf die autolytische Ammoniakbildung aus. Wenn nach Palladin und Iwanoff das Hinzufügen von Phosphaten zur Autolyseflüssigkeit den Prozeß der Ammoniakbildung beträchtlich aufhält, so wird dennoch dieser Schluß durch seine Experimente nicht bestätigt. So z. B.:

	Ammoniak-N in % des Gesamt-N
Wasser	6,0
1 % KH_2PO_4	5,6

[1]) Schütz, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1904.
[2]) W. Palladin und N. Iwanoff, l. c.

Die Differenz zwischen diesen Zahlen liegt innerhalb der Fehlergrenze der Analyse. Nur in den Versuchen mit glykogenarmem Zymin haben diese Forscher eine deutliche Hemmung der Ammoniakbildung durch Phosphate während der Autolyse beobachtet. Auch wir haben keine nachteilige Wirkung der Saccharose auf die Ammoniakbildung während der Autolyse nachgewiesen.

Alloxan, Resorcin und besonders Kaliumjodid vermindern die Ansammlung des Ammoniaks während der Autolyse des Hefanols stark, obwohl im letzteren Falle ein stärkerer Eiweißabbau als in der Kontrollportion stattfindet. Die Ammoniakbildung geht nicht parallel der Eiweißzersetzung vor sich. Es ist möglich, daß sich Ammoniak auf Kosten der Eiweißstoffe indirekt bildet und daß die obengenannten Stoffe den Abbau der das Ammoniak bildenden Substanzen lahmlegen. Wir haben daher die Wirkung des Resorcins und Kaliumjodids auf die Arbeit einiger Fermente, wie Amidase[1]) und Guanase, untersucht, aber keine positiven Resultate bekommen[2]). Es ist

---

[1]) Effront (Compt. rend. 1908, 779) und Kur-no (Colleg of Agricult., Tokio 1911) haben eine Amidase gefunden, die Asparagin unter Ammoniakbildung spaltet.

[2]) Diese Versuche wurden mit dem Hefemacerationssaft und Hefanol ausgeführt. So z. B.:

	NH_3-N mg
10 ccm des Macerationssaftes allein	3,0
10 „ „ „ und 10 ccm 2%ige Asparaginlsg.	24,0
10 „ „ „ allein	2,8
10 „ „ „ und 0,05 Guanin	7,8
6 g Hefanol und 100 ccm Wasser	15,0
6 g „ „ 100 „ 1%ige Asparaginlösung	105,0
6 g „ „ 100 „ Wasser und 0,25 g Guanin	63,6

Während der Autolyse, die 6 bis 10 Tage bei 15° dauerte, wurden Asparagin und Guanin durch den Macerationssaft und Hefanol sehr energisch zersetzt, da die Hefe Amidase und Guanase enthält, wie bekannt ist. Durch Kaliumjodidzusatz wird die Wirkung dieser Fermente nicht verändert.

Wir wollen noch bemerken, daß im Hefemacerationssaft eine energische Proteolyse stattfindet.

15 ccm des Hefemacerationssaftes enthalten . 120,0 mg Eiweiß-N
15 „ „ „ haben nach 8 tägiger Autolyse . . . . 19,2 „ „

Es wurden also je 84% der Eiweißstoffe während der Autolyse zersetzt.

auch wenig wahrscheinlich, daß Ammoniak nach seiner Bildung verbraucht wird und daß Kaliumjodid sowie Resorcin diesen Prozeß begünstigen, obwohl in der Tat bei gewissen Bedingungen der Autolyse Ammoniakverbrauch stattfindet, wie Palladin und Iwanoff[1]) gezeigt haben und was auch wir bestätigen können. Es ist auch wenig wahrscheinlich, daß in diesem Falle die proteolytischen Fermente den Eiweißkern an anderen Stellen angreifen.

Weiter finden wir während der Autolyse 5 bis 7% Stickstoff in Form der organischen Basen, während sich bei der Zersetzung der Eiweißstoffe des Hefanols durch Säuren eine größere Menge davon (13%) bildet. Wir haben keinen Zusammenhang zwischen der Menge des Ammoniaks und der der organischen Basen während der Autolyse gefunden, wie es Palladin und Iwanoff behaupten. Diesen Zusammenhang können wir in den Versuchen dieser Forscher auch nicht finden, da sie in der Wasserportion nur 0,7% Stickstoff in Form der Diaminosäuren gefunden hatten, was vielleicht ein Druckfehler ist. Demnach kann man vermuten, daß Diaminosäuren während der Autolyse verbraucht werden. So wird z. B. Arginin abgebaut[2]), obwohl es unbekannt ist, welche Stoffe sich dabei bilden, da die Hefe keine Urease enthält, wie Kiesel[3]) nachgewiesen hat und was wir auch bestätigen können.

Was die Albumosen und Peptone betrifft, so steigt anfänglich die Menge derselben, später werden sie auch zersetzt. Diese vorübergehende Vermehrung dieser Substanzen wird durch Phosphatzusatz nur verzögert. So z. B.

Versuch 15.

	Pepton-N in % des Gesamt-N		
Tage	1	2	4
Wasserportion	9,26	4,60	4,11
1% KH_2PO_4	—	9,95	3,4
0,1% Citronensäure	5,9	4,60	—

[1]) W. Palladin und N. Iwanoff, l. c.

[2]) Die Hefe enthält Arginase (Shiga, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 502, 1904).

[3]) Kiesel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 75, 190.

Die Umwandlung der Eiweißstoffe in Peptone geht zuerst schneller vor sich als der weitere Abbau derselben. Die primären Phosphate beschleunigen diesen Prozeß.

Unsere Versuche über den Wiederaufbau gewisser bei der Autolyse auftretender Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe sind noch nicht beendigt, und wir gedenken über diese Frage später zu berichten. Wir wollen jetzt nur bemerken, daß die Schlußfolgerungen aus solchen Versuchen nur mit Vorsicht gezogen werden können.

Die Bestimmung sehr geringer Mengen von freien Säuren oder alkalisch reagierenden Stoffen in Flüssigkeiten vegetabilischen oder animalischen Ursprungs.

Von

A. Stutzer und W. Haupt.

(Aus dem Institut für Agrikultur-Chemie der Universität Königsberg.)

(Eingegangen am 25. Januar 1915.)

Die Bestimmung sehr geringer Mengen von freien Säuren oder freien Alkalien ist in gefärbten Flüssigkeiten bisweilen recht schwierig auszuführen, weil der zugesetzte Indicator einen schlechten Farbenumschlag gibt. Der zuerst genannte Berichterstatter hatte vor mehreren Jahren Untersuchungen über den Einfluß eines sauer reagierenden städtischen Kanalwassers auf die auf Rieselfeldern wachsenden Pflanzen ausgeführt und ein bequemes Verfahren zur Bestimmung der freien Säure bzw. des freien Alkalis angewendet. Unter normalen Verhältnissen pflegt das städtische Kanalwasser, wenn man es in der Ableitung unterhalb der Stadt streckenweise untersucht, schwach alkalisch zu reagieren, sobald Harnstoff in Ammoniumcarbonat übergegangen ist. Im vorliegenden Falle wurden zeitweilig große Mengen der sauren Ablauge aus einer Cellulosefabrik in den Kanal abgelassen, und es handelte sich darum, in der gefärbten, etwas trüben Flüssigkeit den Gehalt an freien Säuren genau zu ermitteln. Dies geschah in folgender Weise: 250 ccm des Kanalwassers wurden in einem Erlenmeyer-Kolben mit 25 ccm der im Laboratorium vorrätigen $^{n}/_{5}$-Natronlauge und 1 g Chlorammonium versetzt. Das frei werdende Ammoniak ist abdestilliert und in $^{n}/_{5}$-Schwefelsäure aufgefangen. Selbstverständlich muß nebenbei eine blinde Bestimmung ausgeführt werden, indem man statt des Kanalwassers destilliertes Wasser beim Erhitzen verwendet.

Die im Kanalwasser enthaltene freie Säure neutralisiert einen Teil der zugesetzten Natronlauge, es wird dementsprechend weniger Ammoniak in Freiheit gesetzt und läßt nach der Titration der vorgelegten Schwefelsäure der Säuregehalt der zu prüfenden Flüssigkeit sich genau berechnen. Die direkte Titration der trüben, gefärbten Flüssigkeit ist ungenau.

In letzter Zeit hatten wir andere Flüssigkeiten auf den Gehalt an freier Säure bzw. freiem Alkali zu untersuchen, und kam es darauf an, in meist gefärbten, nur recht schwach sauren oder schwach alkalischen Flüssigkeiten eine sehr große Genauigkeit der Bestimmung zu erzielen.

Zunächst teilen wir mit, in welcher Weise wir den Gehalt an freier Säure bestimmen. Läßt man auf ein Gemenge von Kaliumjodid und Kaliumjodat irgendeine freie Säure einwirken, so tritt schon in der Kälte der Wasserstoff der zugesetzten Säure an Stelle des Kaliums in jene Jodverbindungen ein und es erfolgt die Umsetzung: $HJO_3 + 5\,HJ = J_6 + 3\,H_2O$. Das frei werdende Jod wird nach Zugabe von Stärkekleister durch Natriumthiosulfat titriert.

Selbstverständlich ist die Anwendbarkeit des Verfahrens zur Bestimmung von freier Säure beschränkt. Durch verschiedene chemische Verbindungen wird aus Kaliumjodid Jod in Freiheit gesetzt. Beispielsweise durch Ferrisalze, durch Cuprisalze, durch freies Chlor, durch NaOCl. Bei Gegenwart von Säure durch Superoxyde, durch Kaliumpermanganat, durch Kaliumbichromat, also durch oxydierend wirkende chemische Verbindungen. Derartige Verbindungen pflegen in Flüssigkeiten tierischen oder pflanzlichen Ursprungs nicht oder nur selten enthalten zu sein, und kann man das sogleich zu beschreibende Verfahren bei der Untersuchung von Pflanzensäften oder von gewissen tierischen Flüssigkeiten anwenden, in denen obige Verbindungen nicht enthalten sind.

Die Reaktion $HJO_3 + 5\,HJ = J_6 + 3\,H_2O$ ist sehr empfindlich und vermag sogar in Wasser gelöste Kohlensäure einen Teil des Jods in Freiheit zu setzen. Daher ist es nötig, daß alle Flüssigkeiten, die hierbei in Anwendung kommen, durch Erwärmen von Kohlensäure befreit werden, wenn man die neben der Kohlensäure vorhandene Menge von Säure bestimmen will.

Die Lösung der Jodverbindungen wird bereitet, indem man 20 g Kaliumjodid (KJ) und 5 g Kaliumjodat (KJO_3) getrennt in je $^1/_2$ Liter Wasser löst, welches Wasser zuvor durch Auskochen von Kohlensäure befreit und dann wieder erkaltet war. Die Lösungen sind vor Licht geschützt aufzubewahren.

Die zu prüfende Flüssigkeit wird, wenn nötig, durch Evakuieren oder durch Erwärmen von Kohlensäure befreit und nimmt man von ihr, je nachdem sie sehr schwach oder weniger sauer ist, 25 bis 250 ccm. Geht man von einer festen Substanz aus, so wird die Lösung der Säure durch kohlensäurefreies Wasser bewirkt. Zu der abgemessenen Flüssigkeit, deren Temperatur 17 bis 20° sein soll, setzt man je 25 ccm der oben erwähnten Jodlösungen und wenig von frischem Stärkekleister hinzu. Dann wird mit $^n/_{100}$-Thiosulfatlösung titriert, bis die Blaufärbung verschwunden ist. War die zu untersuchende Flüssigkeit an und für sich gefärbt, so hindert dies die Titration nicht, nur hat man die Flüssigkeit mit destilliertem Wasser, das stets kohlensäurefrei sein muß, zu verdünnen. Beispielsweise macht es keine Schwierigkeiten, in Pflanzensäften oder in wässerigen Auszügen aus Pflanzen den Säuregehalt zu bestimmen. Auch in Milch, die schwach sauer geworden ist, kann trotz des ausgeschiedenen Caseins das Verschwinden der Blaufärbung erkannt werden, jedoch empfiehlt es sich hierbei, eine Lupe zu Hilfe zu nehmen, sobald die Blaufärbung schwach geworden ist. Hat in der Flüssigkeit die Stärke sich ein wenig abgesetzt, so sieht man mit der Lupe, ob bei einzelnen Körnchen Blaufärbung noch vorhanden ist oder nicht. Mit Rücksicht hierauf bereitet man den Stärkekleister durch nur kurzes Erwärmen der Stärke mit Wasser, so daß eine vollständige Verkleisterung nicht eintritt.

Jeder verbrauchte Kubikzentimeter der Thiosulfatlösung entspricht 0,001 27 g Jod oder 0,000 01 g Wasserstoffion der Säure. Liegt nicht eine bestimmte Säure vor, so ist es zweckmäßig, die Säure auf Schwefelsäure zu berechnen, und zeigt jeder Kubikzentimeter der Thiosulfatlösung 0,000 49 g Schwefelsäure (H_2SO_4) an.

Das bei der Bestimmung sehr kleiner Mengen von Säure angewendete Prinzip läßt selbstverständlich sich auch bei Flüssigkeiten anwenden, die Alkalien enthalten, z. B. bei Harn, der

sehr schwach alkalisch ist, aber nur so geringe Mengen von Ammoniumcarbonat enthält, daß die übliche Titrierung mit Säure nicht genügend genaue Ergebnisse liefert. In diesem Falle gibt man zu einer abgemessenen Menge des Harns 25 ccm (wenn nötig 50 ccm) von $^{n}/_{100}$-Schwefelsäure, erwärmt, um die Kohlensäure des Carbonats auszutreiben, läßt wieder erkalten, fügt nun Stärkekleister und je 25 ccm der oben erwähnten beiden Jodlösungen hinzu und titriert mit $^{1}/_{100}$-Thiosulfatlösung.

Vor jedesmaligem Gebrauch der Lösungen ist das Verhältnis der Schwefelsäure zur Thiosulfatlösung festzustellen. War beim blinden Versuch das Verhältnis 25 ccm Schwefelsäure zu 25 ccm Thiosulfatlösung und sind bei der Untersuchung der zu prüfenden Flüssigkeit nur 20 ccm Thiosulfat gebraucht, so war eine 5 ccm der Thiosulfatlösung äquivalente Menge von Alkali zugegen. Ist die Art des Alkalis nicht genau bekannt, so wird es empfehlenswert sein, auch in diesem Falle die Schwefelsäure zur Grundlage der Berechnung zu machen und zu sagen: Jeder Kubikzentimeter der weniger gebrauchten Thiosulfatlösung zeigt so viel Alkali an, als zur Neutralisation von 0,00049 g Schwefelsäure erforderlich ist.

Bei der Bestimmung freier Alkalien stört die Färbung der Flüssigkeit nicht, wenn sie zuvor genügend verdünnt wurde. In vielen Fällen, in denen man bisher die Alkalität nur durch die „Tüpfelmethode“ unter Benutzung von Reagenspapier bestimmen konnte, z. B. bei der Untersuchung von Rübenmelasse, macht die genaue Titration nach unserem Verfahren keine Schwierigkeit.

Bemerkungen zu der Mitteilung von R. Höber: Beitrag zur physikalischen Chemie der Vitalfärbung.

Von

J. Traube.

(Aus der Technischen Hochschule zu Charlottenburg.)

(Eingegangen am 14. Januar 1915.)

In einer Abhandlung: Beitrag zur physikalischen Chemie der Vitalfärbung, diese Zeitschr. **67**, 420, 1914, gelangt Höber zu dem Ergebnis, daß vitales Färbungsvermögen, Giftigkeit, Umladefähigkeit und Tropfenzahl der wässerigen Lösungen saurer und basischer Farbstoffe nicht miteinander zusammenhängen.

In zwei Abhandlungen aus meinem Laboratorium: J. Traube, Über die Wirkung von Natriumkarbonat auf basische Farbstoffe und deren Giftigkeit, diese Zeitschr. **42**, 495, 1912 und Helene Tschernorutzky, Über die Wirkung von Natriumkarbonat auf einige Alkaloidsalze und Farbstoffe, diese Zeitschr. **46**, 112, 1912, beschäftigten meine Schülerin und ich mich mit demselben Probleme, soweit dasselbe die Beziehungen von Oberflächenspannung und Giftigkeit (gegen Kaulquappen) betraf[1]).

Die Untersuchung von 15 basischen und 5 sauren Farbstoffen und theoretische Erwägungen führten uns zu dem Ergebnisse, daß eine so einfache Beziehung, wie dieselbe zwischen Oberflächenaktivität und Giftigkeit für Alkaloidsalzlösungen sowie Narkotica gefunden war, für Farbstoffe nicht bestehen konnte. Schon die verschiedenen Löslichkeitsverhältnisse von kaum löslichen Farbstoffbasen einerseits, vielen Alkaloiden und Narkoticis andererseits, sprachen hiergegen. Immerhin kam ich zu dem als vorläufig bezeichneten Ergebnisse, daß basische Farbstoffe, welche die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen, meist gegen Kaulquappen giftiger sind als solche, die keine Erniedrigung der Oberflächenspannung bewirken. Die Oberflächenspannung ist, so bemerkte ich, somit auch hier einer der wichtigen Faktoren, von denen die Giftigkeit abhängt.

---

[1]) S. auch meine Bemerkungen über Oberflächenspannung, Färbevermögen usw., Kolloidchem. Beihefte **1912**, 240: Über Oberflächenspannung und Flockung kolloider Systeme.

Prüfen wir, wie weit dieser Satz durch Höbers stalagmometrische Messungen an einer Anzahl 1 %iger wässeriger Lösungen basischer Farbstoffe sowie Versuche an Kaulquappen mit 0,01 %igen Lösungen derselben Farbstoffe gestützt wird.

In der folgenden Tabelle sind die Farbstoffe nach abnehmender Giftigkeit geordnet. Die Zahlen bedeuten die Tropfenzahlen:

Malachitgrün 20,9;
Methylviolett 20,7, Krystallviolett 20,6, Chrysoidin 20,6;
Methylgrün 20,3, Neutralviolett 18,2, Dahlia 20,2;
Methylengrün 18,0, Brillantkresylblau 18,4, Thionin 17,5;
Toluidinblau 17,6;
Vesuvin 18,6, Neutralrot 17,8;
Safranin 17,9, Methylenblau 17,5.

Es wurde aus Gründen, die sogleich erwähnt werden sollen, zunächst lediglich das Rhodamin fortgelassen.

Sieht man sich die Zahlen an, so scheint es mir, daß Höber zu weit gegangen ist, wenn er annimmt, daß die Oberflächenaktivität die Giftigkeit (zum mindesten gegen Kaulquappen) nicht mitbedingt.

Nun hat allerdings Höber gefunden, daß Rhodamin trotz der hohen Tropfenzahl von 21,1 mit am wenigsten gegen Kaulquappen giftig ist[1]) Hier ist aber daran zu erinnern, daß Rhodamin auf Grund seiner Konstitution sehr schwache basische Eigenschaften besitzt.

In einer Arbeit von mir und meinem Schüler Marusawa über Flockungsvorgänge, die demnächst in der Intern. Zeitschr. f. phys.-chem. Biologie erscheinen soll, wurde gezeigt, daß im Gegensatz zu den sauren Farbstoffen die allerverschiedensten basischen Farbstoffe auf elektronegative Kolloide, Suspensionen und Bacillen (Albumin, Lecithin, Kaolin, Blutserum, Colibacillen usw.) flockend wirken; nur Rhodamin verhielt sich in den untersuchten Konzentrationen wie die sauren Farbstoffe nicht flockend. Das Rhodamin B erwies sich auch in starker Kalilauge löslich.

Was mich indessen besonders veranlaßte, zu dem Aufsatze von R. Höber Stellung zu nehmen, ist die folgende Anmerkung auf S. 425 von Höbers Arbeit.

„In einem Aufsatz von J. Traube (Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 31) findet sich der folgende Satz: „Je nachdem ob ein Protozoon oder Bacillus im elektrischen Felde nach der Kathode oder Anode wandert, verhält er sich mehr kationisch oder anionisch, und je nachdem werden in erster Linie anionische oder kationische Arzneimittel in Betracht kommen. So wandern die Trypanosomen nach der Kathode dementsprechend wurden in erster Linie das anionische Atoxyl und der saure Farbstoff Trypanrot als wirkungsvoll bezeichnet, bei der tertianen Form der Malaria verwendet man demgegenüber in erster Linie basische

[1]) Ich hatte übrigens l. c. eine mittlere Giftigkeit für Rhodamin B größer als für Methylengrün und Toluidinblau gefunden.

Arzneimittel: Chinin, Salvarsan und Methylenblau. Die Spirochaeta pallida wandert überhaupt nicht, hier kommen demnach sowohl anionische (J, Hg) wie kationische Arzneimittel (Salvarsan) in Betracht." —

Wir haben uns vergeblich bemüht, die auffallende Angabe von Traube, daß die Trypanosomen positive Ladung führen, zu bestätigen. Wir haben sowohl Nagana wie Dourine auf weißen Mäusen gezüchtet und beide auf ihre Kataphoresewirkung untersucht; beide gehen zur Anode. Die von Traube in dem genannten Aufsatz entwickelte Anschauung vom ‚elektro-physikalischen Dualismus der Arzneimittelwirkung, schießt gewiß weit über das Ziel."

Es wurde von mir an anderer Stelle[1]) erwähnt, daß Herr Commandon vom Institut Pasteur in Paris gelegentlich eines mit großem Beifall aufgenommenen Vortrages im Kaiserin-Friedrich-Haus in Berlin im Februar 1911, verbunden mit kinematographischen Vorführungen, mikroskopische Vorgänge auch kataphoretischer Erscheinungen vorführte und in dem mir vorliegenden gedruckten Vortrage bemerkte: „Die roten Blutkörperchen bewegen sich nach der Anode, die Trypanosomen nach der Kathode" (auch abgestorbene). Herr Commandon schrieb mir alsdann wörtlich die folgenden gewiß allgemein interessierenden Bemerkungen:

„Tous les trypanosomes que j'ai examiné à ce point de vue et dans le sang, sont transporté vers la cathode. Mais la vitesse du transport est plus ou moins intense selon les races et selon l'âge de la maladie.

Je n'ai pu faire d'expériences sur les hématozoaires de la malaria.

Spirochaeta Gallinarum est aussi transporté vers la cathode. Il en est de même pour les spirochètes de la fièvre récurrente, mais l'expérience est moins nette à cause de l'adhérence de ces microorganismes au verre et aux globules sanguines.

Le courant agit très faiblement sur spirochaeta pallida de la syphilis, il m'a bien semblé cependant que ce spirochète tend à être transporté vers l'anode.

Il y a de nombreuses précautions à prendre dans ces expériences de façon à éviter plusieurs causes d'erreur comme l'entraînement dû à un mouvement d'ensemble du liquide qui ne tarde pas à se produire lorsque le courant passe assez longtemps.

Diesen Bemerkungen habe ich nichts hinzuzufügen.

Was aber den Schlußsatz von Herrn Höber betrifft, so darf ich wohl in Ergänzung von Höbers Zitat aus meiner damaligen Arbeit die folgenden Sätze hier noch erwähnen: „Es gilt hier nichts anderes, als das, was der Farbstoffchemiker und der Histologe schon lange wissen: der Farbstoffchemiker verwendet verschiedene Beizen für basische und saure Farbstoffe, der Histologe weiß, daß saure Farbstoffe andere Zellen färben als basische und verwendet daher vielfach entsprechende Farbgemische. Ganz Analoges wurde festgestellt für die Färbung von Ba-

[1]) Traube, Kolloidchem. Beihefte, l. c. S. 316.

cillen, je nach ihrer Wanderungsrichtung im elektrischen Felde (V. Henri und Cernovodeaux). Aber der Pharmakologe und Therapeut handelt, wenn man von gewissen empirischen Erfahrungen absieht, noch immer so wie ein Farbstoffchemiker handeln würde, wenn er für sämtliche Farbstoffe dieselben Beizen, oder ein Histologe, wenn er nur basische oder saure Farbstoffe verwenden wollte!

Hier muß die bessernde Hand angelegt werden, es ist die Forderung zu stellen, daß dieser elektrophysikalische Dualismus der Arzneimittelwirkung in der modernen Pharmakologie und Therapie bewußt und nicht nur gelegentlich auf Grund der Empirie beachtet wird."

Aus diesen Worten geht nicht hervor, daß ich etwa die elektrophysikalischen Wirkungen als die einzigen Wirkungen der Arzneimittel ansehe. Ich habe aber keine Veranlassung, auf Grund von Herrn Höbers diesbezüglicher Bemerkung irgendein Wort dieser früheren Ausführungen zu streichen.

Untersuchungen über die Autooxydation der Lipoidstoffe und Beitrag zur Kenntnis einiger Pigmente (Chromolipoide) und Pigmentkomplexe.

Von

C. Ciaccio.

(Aus dem Institut für operative Medizin der Kgl. Universität Palermo.)

(Eingegangen am 16. Februar 1915.)

Namentlich seit Obersteiner[1]) ist viel über das Vorkommen besonderer Pigmente in einer großen Anzahl von normalen und pathologischen Zellen berichtet worden, die zwar die mikrochemischen Eigenschaften der Fettstoffe aufweisen, aber in den organischen Lösungsmitteln schwer löslich oder geradezu unlöslich sind.

Zunächst glaubte man, diese Pigmente als Lipochrome identifizieren zu können [Rosin[2]), Rothmann[3]), Mühlmann[4]) usw.]; späterhin aber sah man, daß das deshalb nicht richtig war, weil im allgemeinen diese Stoffe die charakteristischen Reaktionen der Lipochrome nach Behandlung mit H_2SO_4, HNO_3, J + KaJ nicht aufweisen. Daher werden heute unter den Fettpigmenten zwei Kategorien unterschieden:

1. die eigentlichen Lipochrome, die nur selten angetroffen werden, und zwar in den Luteinzellen (Sehrt[5]), in den Fettzellen der Amphibien (Neumann[6]), in einer Cyste der Adergeflechte (Sjövall[7]);

---

[1]) Obersteiner, Anleitung beim Studium des Baues der nervösen Zentralorgane. Wien 1888.

[2]) Rosin, Deutsche med. Wochenschr. 1895; Virchows Archiv 162.

[3]) Rothmann, ebenda 1901.

[4]) Mühlmann, Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickl. 1901.

[5]) Sehrt, Virchows Archiv 177.

[6]) Neumann, ebenda 170.

[7]) Sjövall, Zieglers Beiträge 47.

2. eine weitere Kategorie von sehr verbreiteten Pigmenten, denen verschiedene Namen gegeben wurden, wie: Fettpigment (Obersteiner), fetthaltiges Abnutzungspigment (Lubarsch, Sehrt), Chromolipoide (Ciaccio), Lipofuscine (Borst, Hueck). Letztere sind ausgezeichnet durch ihr negatives Verhalten gegen die Reagenzien der Lipochrome und durch ein positives Verhalten gegen die Reagenzien der Lipoidstoffe; außerdem entfärben sie sich mit den Oxydationsmitteln, sind gegen Säuren und Alkalien beständig, schwer löslich oder geradezu unlöslich in den Fettlösungsmitteln und zeigen eine feste oder halbfeste Konsistenz.

Was die Natur dieser Fettpigmente anbelangt, so kam man namentlich nach den Untersuchungen Lubarschs[1]) und seines Schülers Sehrt[2]) und nachdem ausgeschlossen worden war, daß es sich um Lipochrome handelte, auf den Gedanken, daß es Komplexe sein möchten, gebildet durch die mehr oder weniger stabile Vereinigung eines Fettstoffes mit einem Pigment, das eine Änderung in den Löslichkeitsverhältnissen hervorrufen würde. Dieser Theorie haben sich bisher die Cytologen angeschlossen und, von der oben angedeuteten Vorstellung ausgehend, haben sie sich bemüht, die Natur des an dem Fett-Pigmentkomplex beteiligten Fettstoffes festzustellen.

Über diesen Punkt gehen jedoch die Schlußfolgerungen der verschiedenen Forscher auseinander. So soll es sich nach einigen um Lecithoid- oder Lipoidstoffe im engen Sinne handeln [Marinesco[3]), Roussy et Laroche[4]), Casamajor[5]), De Motet[6]), Luna[7]), Kawamura[8])]; nach Rachmanow[9]) um Fettsäuren; nach Mulon[10]) hätten das Cholesterin und seine Ester die Eigenschaft, verschiedene Chromogene zu absorbieren;

---

[1]) Lubarsch, Centralbl. f. Pathologie 13.

[2]) Sehrt, a. a. O.

[3]) Marinesco, Révue de Psych. et de Psychol. expér. 9; La cellule nerveuse. Paris 1909.

[4]) Roussy et Laroche, Société de Neurologie 1912.

[5]) Casamajor, Obersteiners Arbeiten 1910.

[6]) De Motet, Inaug.-Dissert. Tübingen 1909.

[7]) Luna, Folia Neurobiologica 6.

[8]) Kawamura, Die Cholesterinesterverfettung. Jena 1911.

[9]) Rachmanow, Zieglers Beiträge 53.

[10]) Mulon, Compt. rend. Soc. de Biologie de Paris 1913.

nach Ziveri[1]) soll es sich um Phosphatide und Cerebroside in Verbindung mit Cholesterin oder nicht handeln; nach Biondi[2]) um Lipoidstoffe im engen Sinne und neutrale Fette; nach Buscaino[3]) endlich, der auch gesucht hat, die fraktionierte Extraktion nach Fränkel für mikrochemische Zwecke zu verwenden, soll es sich um gesättigte Phosphatide bzw. Sulfatide und Cerebroside mit Spuren anderer Substanzen handeln.

Erwähnen will ich endlich noch, daß ich[4]) hinsichtlich der Natur einiger Fettpigmente Anschauungen vertreten habe, die von den herrschenden abweichen und denen sich neuerdings auch Hueck[5]) angeschlossen hat, obwohl er anscheinend meine diesbezüglichen Arbeiten nicht kennt.

In der Tat habe ich versucht, zwei Hauptarten von Fettpigmenten zu differenzieren, nämlich:

a) aus der Vereinigung eines Lipoidstoffes mit irgendeinem Pigment, namentlich solchen, die sich aus dem Hämoglobin herleiten, hervorgehende Gebilde;

b) Gebilde, die morphologischen, genetischen und mikrochemischen Daten nach nicht so sehr als eine Vereinigung von Fett und Pigment, sondern als umgewandelte, und zwar durch einen Oxydationsprozeß verharzte Lipoidstoffe betrachtet werden müssen.

Zur Unterstützung dieser Hypothese sind von mir sowohl wie von Hueck außer Argumenten morphologischen und mikrochemischen Charakters einige allgemeine Daten herangezogen worden, aus denen hervorgeht, daß die ungesättigten Fettstoffe autooxydabel sind und durch die Autooxydation gefärbt werden.

Bevor ich über die Resultate meiner diesbezüglichen Untersuchungen berichte, will ich kurz die bereits über die Autooxydation der ungesättigten Fettstoffe gemachten Beobachtungen anführen.

---

[1]) Ziveri, Folia Neurobiologica 6.

[2]) Biondi, Rivista ital. di Neurop. Psich. ed Elettroter. 6.

[3]) Buscaino, Rivista di Patol. nervosa e mentale 1913.

[4]) Ciaccio, Arch. f. Zellforsch. 5; Biologie Médicale 1912. — Ciaccio und Scaglione, Zieglers Beiträge 55.

[5]) Hueck, Zieglers Beiträge 54.

Vor längerer Zeit bereits fanden Gottlieb[1]), Bromeis[2]) u. a., daß die Ölsäure durch Aussetzung an die Luft bedeutende Mengen O aufnehmen kann. Zu ähnlichen Schlüssen kamen auch Mulder[3]) beim Olivenöl und Berthelot[4]) beim Trioleïn; hier ist jedoch die absorbierte O-Menge bedeutend geringer als bei der Ölsäure.

Cloëz[5]), Kissling[6]), Mulder usw. experimentierten dann an Fetten verschiedener Herkunft und fanden, daß von diesen diejenigen am raschesten autooxydabel sind, welche die Triglyceride der Linolsäure oder Isomere derselben enthalten, und daß letztere im Unterschied zu der Ölsäure austrocknend sind, d. h. durch Wirkung der Oxydation verharzen und so fest werden.

Durch genauere und eingehendere Untersuchungen stellten Fahrion[7]), Hazura und Mitarbeiter[8]) fest, daß die ungesättigten Fettstoffe durch Selbstoxydation Veränderungen erfahren, die bei den freien Fettsäuren viel ausgeprägter sind als bei den entsprechenden Triglyceriden. Die bedeutendste Veränderung wird dargestellt durch die Erhöhung der Dichte; während jedoch die Ölsäure nur sirupartig wird, werden Linolsäure, Linolensäure und Isomere fest; in gleicher Zeit, wie diese Modifikationen eintreten, nimmt die Jodzahl ab. Die entstandenen Oxydationsprodukte sind oxydierte, in Petroläther unlösliche Säuren, in denen eine Substitution der H-Atome durch OH eintritt und Alkoholgruppen entstehen.

Diesen analoge Erscheinungen wurden von den Biochemikern beobachtet.

So erwähnt Thudichum[9]) einige Oxydationsprodukte des Kephalins, die er als Oxykephalin, Peroxykephalin und Oxy-

---

[1]) Gottlieb, Ann. de Chimie et de Phys. 57.

[2]) Bromeis, ebenda 42.

[3]) Mulder, Die Chemie der austrocknenden Öle.

[4]) Berthelot, zit. in Enciclopedia di Chimica di Guerreschi. Turin.

[5]) Cloëz, Bull. de la Soc. chim. de Paris 1865.

[6]) Kissling, Zeitschr. f. angew. Chemie 1891.

[7]) Fahrion, ebenda 1898.

[8]) Hazura, unter Mitarbeit von Bauer, Friedreich, Monatsh. f. Chem. 7, 8, 9, 10.

[9]) Thudichum, Die chemische Konstitution des Gehirnes. Tübingen 1901.

kephaloidin bezeichnet. Erlandsen[1]) machte auf die Autooxydation einiger Phosphatide aufmerksam; er sah, daß durch die Aussetzung an die Luft die Fettsäuren des Lecithins oxydiert werden, wie aus der Verringerung der Jodzahl hervorgeht. Außerdem sah er, daß das Cuorin sich durch Autooxydation an der Luft nach einiger Zeit in eine Substanz verwandelt, die von harzähnlicher Konsistenz und in Äther und anderen Lösungsmitteln unlöslich ist.

In den letzten Jahren wurde die Selbstoxydabilität der ungesättigten Lipoide auch zum Ausgangspunkt für einige biologische Untersuchungen und Lehren. So meint Fränkel[2]), die ungesättigten Phosphatide spielten eine große Rolle bei der Zellenatmung, indem sie als Oxydasen funktionierten. Winterstein[3]) fand mit Hilfe des von ihm modifizierten Thumbeyschen Mikrospirometers, daß das Froschrückenmark imstande ist, bedeutende O-Mengen zu absorbieren, und Scaffidi[4]) fand nach demselben Verfahren, daß die vom Froschrückenmark während der Wallerschen Degeneration absorbierte O-Menge deutlich größer ist als die des normalen Rückenmarks. Letzterer Autor glaubt, daß dies auf Spaltung komplexer Lipoide (Protagon?) beruhe. Signorelli[5]) bestätigt das Autooxydationsvermögen der Lipoide, indem er den durch die Lipoidextrakte des Rückenmarkes absorbierten O mißt. Segale[6]) bringt mit der Autooxydation einiger Lipoidkomplexe das bactericide Vermögen derselben in Zusammenhang. Schließlich erinnere ich an die Beobachtung, daß einige Substanzen katalytisch wirken, d. h. die Autooxydationsprozesse der ungesättigten Fette und Lipoide beschleunigen. Bereits vor langer Zeit bemerkten so einige Autoren (Berthelot, Bishop usw.), daß die Bleisalze und das Manganresinat die Oxydation des Leinöls beschleunigen.

Neuerdings beobachteten Warburg und Meyerhof[7]), daß das Lecithin, in Wasser suspendiert, sich in Gegenwart von Eisensalzen rasch bei bei gewöhnlicher Temperatur oxydiert.

[1]) Erlandsen, Zeitschr. f. phys. Chem. 1907.
[2]) Fränkel, Wiener med. Wochenschr. 1909.
[3]) Winterstein, Zeitschr. f. allg. Phys. 1907.
[4]) Scaffidi, diese Zeitschr. 1910.
[5]) Signorelli, diese Zeitschr. 1910.
[6]) Segale, Pathologica 1911.
[7]) Warburg und Meyerhof, Zeitschr. f. phys. Chem. 85.

Zur besseren Begründung der von mir weiter oben angedeuteten Theorie über die Natur einiger Fettpigmente habe ich systematische Untersuchungen zur Feststellung der Veränderungen angestellt, die verschiedene lipoide Substanzen durch Autooxydation erleiden, und dann die Eigenschaften dieser Oxylipoide mit denen der Fettpigmente verglichen. Zu diesem Zweck richtete ich mein Augenmerk hauptsächlich auf die allgemeinen physikalischen Eigenschaften: Konsistenz und Farbe, Verhalten gegen Säuren, Alkalien usw. und Verhalten gegen die gebräuchlichsten Reagenzien bei der mikrochemischen Untersuchung der Fettstoffe.

Technik und Untersuchungsmaterial.

Die von mir untersuchten Fettstoffe waren folgende:

a) Glycerinester (Erba, Kahlbaum, Merck),
b) Cholesterinester (Windaus[1]),
c) Fettsäuren und Seifen (Erba, Kahlbaum, Merck),
d) verschiedene Phosphatide und Cerebroside (Fränkel[1]),
e) Cholesterin (Merck),
f) Lecithin, Cuorin, Leberdiphosphatid und direkt aus den entsprechenden Zellelementen extrahierte Lipoidkomplexe.

Diese Substanzen wurden in 0,9 %iger Kochsalzlösung oder in Ringerscher Lösung emulsioniert, in dünnen Schichten in Petri-Schalen oder in niedrige und weithalsige Erlenmeyer-Kölbchen gegossen und an der Luft stehen gelassen, wobei zur Erhaltung eines kaum feuchten Milieus von Zeit zu Zeit einige Tropfen Wasser zugegeben und zur Beförderung der Oxydation mit einem Glasstäbchen leicht umgerührt wurde. Dies war das allgemeine Vorgehen. Daneben aber wurden verschiedene Bedingungen experimentell erforscht: Einfluß des Lichtes und der Temperatur, steriles oder nicht steriles Milieu, Wirkung gegebener Substanzen.

Resultate.

Vor allem muß vorausgeschickt werden, wie übrigens bereits bekannt ist, daß die Fettstoffe überhaupt, wenn sie unter

---

[1]) Den Herren Professoren Windaus und Fränkel spreche ich für die Freundlichkeit, mit der sie mir das angedeutete Untersuchungsmaterial zusandten, meinen herzlichsten Dank aus.

Luftabschluß gehalten werden, keine merklichen Veränderungen erfahren und auch durch Aussetzung an die Luft die gesättigten Substanzen und Cholesterin, unter welchen Bedingungen auch immer die Versuche vorgenommen wurden, selbst nach langer Zeit keine bemerkenswerten Veränderungen aufweisen, wenigstens was die uns hier interessierenden Eigenschaften anbelangt.

Dagegen gehen die ungesättigten Fettstoffe je nach ihrem chemischen Bau, der Zeit und den Bedingungen, unter denen die Autooxydation erfolgt, mehr oder weniger bedeutenden Änderungen entgegen.

I. Nach dieser Feststellung berichte ich zunächst über die von verschiedenen ungesättigten Substanzen in der Zeit bei gleichbleibenden äußeren Bedingungen: Lichtabschluß, Temperatur unter 15°, sterilem feuchtem Milieu, Verteilung in dünnen Schichten, erlittenen Veränderungen.

Ölsäure. In dem Maße, wie die Zeit fortschreitet, wird diese Säure immer dicker und schließlich sirupartig, doch habe ich bis jetzt, d. h. nach 2 Jahren, nie ein Festwerden beobachtet.

Die Farbe wird nach einigen Monaten gelblich und weiterhin immer intensiver bis schmutziggelb, was sie lange Zeit hindurch bleibt. Die Löslichkeit in den verschiedenen Lösungsmitteln überhaupt hat sich vermindert und auf die Dauer wird Unlöslichkeit in Petroläther beobachtet.

Mit H_2SO_4 wird sie braunrot; mit einer Normallösung von KOH verseift sie; gegen die Fettreagenzien verhält sie sich wie die gewöhnlichen Fettsäuren (s. Tabelle I).

Linol- und Linolensäure. Diese Säuren erleiden viel raschere und bedeutendere Veränderungen als die Ölsäure, namentlich die zweite. So nimmt die Konsistenz mit der Zeit immer mehr zu und wird schließlich fest. Die Farbe wird zunächst bernsteingelb und schlägt dann allmählich in schmutziggelb, braungelb um, bis sie braunrot wird.

Die Löslichkeit zeigt ebenfalls bedeutende Änderungen. Zunächst werden diese Säuren unlöslich in Äther, Petroläther und Benzin; späterhin, wenn sie eine braunrote Farbe annehmen, sind sie auch in Xylol, Benzol und Aceton unlöslich, wenig, aber vollkommen löslich in Chloroform und Alkohol. Nach ungefähr 6 Monaten endlich besteht nur eine partielle

Löslichkeit in Alkohol und Chloroform in der Wärme; ich sage partielle Löslichkeit, weil unter dem Einfluß dieser Lösungsmittel zwei Substanzen isoliert werden können, von denen die eine unter Gelbfärbung des Lösungsmittels in Lösung geht, während die andere ungelöst bleibt und eine körnige schmutziggelbliche Masse bildet; durch wiederholtes Auswaschen mit warmem Alkohol und Chloroform isoliert, zeigt sich letztere immer unlöslich.

Was das Verhalten dieser Oxydationsprodukte angeht, so verzeichnen wir folgendes:

Beständigkeit gegen H_2SO_4, mit der man eine intensiv weinrote Färbung bekommt, die in schwarzbraun übergeht.

Beständigkeit gegen KOH in den vorgerückten Oxydationszuständen; doch wird mehr oder weniger ausgeprägte Entfärbung erhalten. Mit den Fettreagenzien bekommt man ein analoges Verhalten wie bei den gewöhnlichen Fettsäuren; nur in den vorgerückten Oxydationszuständen geben OsO_4 bzw. das Marchische Verfahren eine Braunfärbung.

Glycerin- und Cholesterinester. Die Glycerinester (Olein, Linolein) erleiden, obwohl erst nach längerer Zeit und nur partiell, analoge Veränderungen wie die entsprechenden Fettsäuren; zu gleicher Zeit werden Spaltungsprozesse beobachtet, die sich chemisch und mikrochemisch durch Nachweis der Fettsäuren deutlich dartun lassen.

Das Cholesterinoleat dagegen zeigt sich viel widerstandskräftiger als die Glycerinester, und nach ungefähr 2 Jahren wird in ihm nur eine gelbliche Färbung, eine wachsartige Konsistenz und Anwesenheit von kleinen Mengen Fettsäuren wahrgenommen.

Phosphatide. Ich habe Versuche angestellt mit:

Monoaminophosphatiden: Lecithin, aus Hühnerei nach dem Erlandsenschen Verfahren extrahiert; Kephalin und Myelin (Fränkel).

Monoaminodiphosphatiden: Cuorin aus dem Hundeherzmuskel und Leberdiphosphatid von demselben Tiere, extrahiert nach dem Verfahren von Erlandsen.

Triaminodiphosphatiden: Sahidin (Fränkel).

Diese Lipoide weisen die bedeutendsten Veränderungen auf; die Konsistenz ist je nach dem Feuchtigkeitsgehalt des

Milieus fest oder wachsartig. Die Farbe wechselt mit der Zeit und je nach der Art: die raschesten und stärksten Veränderungen werden beim Cuorin und beim Leberdiphosphatid beobachtet, die bereits in wenig Tagen braunrot werden; es folgen dann nacheinander das Kephalin, Lecithin, Myelin; das Sahidin erwirbt erst nach einigen Monaten eine bräunlichgelbe Farbe.

Die Löslichkeit in den verschiedenen geeigneten Lösungsmitteln nimmt immer mehr ab bis zur Unlöslichkeit selbst in der Wärme; diese Grenze tritt zuerst beim Cuorin und Leberdiphosphatid ein und dann beim Kephalin, Lecithin, Myelin, Sahidin; stets jedoch erst nach einigen Monaten.

Hinsichtlich des Verhaltens dieser oxydierten Lipoide ist folgendes zu verzeichnen:

Mit H_2SO_4 werden sie zuerst braunrot und dann schwärzlichbraun.

Mit KOH werden sie fadenziehend und bei der mikroskopischen Beobachtung sieht man Bildung von Myelinfiguren.

Gegen die Fettreagenzien verhalten sie sich im allgemeinen wie die nicht oxydierten Phospatide, nur daß OsO_4 überhaupt nicht reduziert wird und sie nach dem Fischlerschen Verfahren nur eine leichte grünliche Farbe annehmen, und das auch nicht immer.

II. Nach Feststellung dieser allgemeinen Eigenschaften, denen die ungesättigten Fettstoffe durch die Autooxydation entgegengehen, wollte ich durch eine weitere Reihe von Untersuchungen den Einfluß bestimmen, den einige Faktoren auf die Geschwindigkeit der Autooxydation selbst ausüben.

Was die Temperatur anbetrifft, so scheint die Autooxydation bei 37° ein wenig rascher als bei Zimmertemperatur zu gehen; dasselbe tritt ein, wenn die Substanzen dem diffusen Tageslicht ausgesetzt sind.

Keine bemerkenswerten Erscheinungen werden in bezug auf die Fettsäuren beobachtet, wenn die Autooxydation in sterilem oder nicht sterilem Milieu erfolgt. Nur bei Phosphatiden und ein wenig auch bei den Glycerinestern, die ohne weiteres an der Luft in feuchtem Milieu stehen gelassen werden, ist das Freiwerden von Fettsäuren stärker als in sterilem Milieu.

Schließlich habe ich besondere Untersuchungen über den Einfluß angestellt, den einige Substanzen, und zwar hauptsächlich das Cholesterin und verschiedene Eisen-, Mangan- und Magnesiumsalze auf die Geschwindigkeit der Autooxydation ausüben.

Reines Cholesterin wird, wie bereits angedeutet, obwohl es eine ungesättigte Verbindung ist, durch die Autooxydation in seinen physikalischen und mikrochemischen Eigenschaften nicht bemerkenswert verändert. Wird dagegen diese Substanz in verschiedenem Verhältnis mit Fettsäuren und ungesättigten Phosphatiden gemischt, so bemerkt man eine deutliche Beschleunigung in der Autooxydation des Lipoidkomplexes. Bei den Cholesterin-Fettsäuregemischen werden die besten Resultate besonders dann erhalten, wenn Cholesterin und Säure in equimolekularen Mengen zusammengebracht werden.

Die Autooxydation ist sodann bedeutend beschleunigt bei Gegenwart von Mn-, Fe-, Mg-Salzen, auch wenn diese in kleinen Mengen zugesetzt werden.

Hierzu werden verschieden konzentrierte Salzlösungen hergestellt und mit Aufschwemmungen der verschiedenen Lipoide in Wasser vermischt; die Mischung wird in Petrischalen verteilt, Temperatur 36°, das Milieu wird wie gewöhnlich leicht feucht gehalten.

Die unter diesen Bedingungen beobachteten Erscheinungen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

a) Die Autooxydation der ungesättigten Lipoide wird durch die Anwesenheit der genannten Salze bedeutend beschleunigt.

b) Die Wirkung dieser Salze macht sich mit verschiedener Schnelligkeit bemerkbar, je nach der Natur des Fettstoffes, und zwar in der bei der ersten Serie von Untersuchungen angedeuteten Reihenfolge.

Die Diphosphatide werden braunrot und schon nach 2 bis 3 Tagen unlöslich in den Lösungsmitteln; Kephalin nach 5 bis 6, Lecithin nach 10 bis 12 Tagen, Myelin und Sahidin nach 2 Wochen oder wenig mehr.

Linolsäure und Linolensäure zeigen nach wenig Tagen dieselben Veränderungen, die unter gewöhnlichen Verhältnissen nach mehreren Monaten eintreten; bei längerer Einwirkung werden sie überdies in den Lösungsmitteln auch in der Wärme voll-

kommen unlöslich und bekommen eine braunrote Färbung, feste Konsistenz, körniges Aussehen.

Die Ölsäure wird, besonders wenn mit Cholesterin zusammengebracht, im Gegensatz zu dem, was wir bei den Untersuchungen der 1. Reihe gesehen haben, nach ca. 3 Monaten fast fest, von körnigem Aussehen, braungelb, unlöslich oder fast unlöslich in den Lösungsmitteln, auch in der Wärme, gegen H_2SO_4 und KOH beständig.

Auch in diesen Fällen ist das Verhalten gegen die Fettreagenzien ähnlich dem in der 1. Reihe von Untersuchungen erwähnten.

c) Die katalytische Wirkung dieser Salze beruht im wesentlichen auf dem Kation und ist unter sonst gleichbleibenden Bedingungen am stärksten beim Mn, am schwächsten beim Mg.

Ich habe auch Untersuchungen über die Jodzahl angestellt, und zwar selbstverständlich bis zu dem Punkt, wo die Substanzen noch in Chloroform löslich waren. Ohne auf Einzelheiten einzugehen, bemerke ich, daß sowohl bei der Ölsäure und Linolsäure wie bei den Phosphatiden die Jodzahl zuerst, und zwar besonders in der 1. Woche rasch herabgeht, während sie späterhin langsam abnimmt, um dann schließlich nur noch leichte Schwankungen zu erfahren. Unter dem Einfluß der vorerwähnten katalytischen Agenzien treten diese Erscheinungen in denselben Proportionen, aber beschleunigt, ein.

III. Als Ergänzung zu diesen Daten führe ich auch folgende Untersuchungen über das Verhalten einiger der Autooxydation unterzogener Zellipoide an.

Aus speziellen von mir angestellten morphologischen und histochemischen Untersuchungen, die dann von anderer Seite bestätigt wurden, geht hervor, daß in einigen Zellelementen (den Nebennieren, dem Corpus luteum, den Leydigschen und Schrönschen interstitiellen Zellen, den Ciaccioschen interstitiellen Lipoidzellen) die Lipoidstoffe einem metabolischen Cyclus entgegengehen, bei dem die letzte Phase durch das sogenannte Fettpigment dargestellt wird. Diese Erscheinungen treten besonders charakteristisch im Corpus luteum auf, in dem drei Hauptperioden unterschieden werden können, die nacheinander ausgezeichnet sind durch das überwiegende Vorhandensein von Glycerin- und Cholesterinestern, dann durch das

Überwiegen von Lipoiden im engeren Sinne und endlich durch die Anwesenheit eines goldgelben Pigmentes, das zwar sämtliche mikrochemischen Eigenschaften der Lipoide besitzt, aber in den organischen Lösungsmitteln auch in der Wärme unlöslich ist und gegen Säuren und Alkalien recht beständig ist. Eben dieses Material schien mir zur Anstellung einiger Versuche besonders geeignet.

Ein frisches Hunde-Corpus-luteum in der 2. Periode wird in zwei Stückchen zerlegt, deren eines als Kontrolle für histochemische Untersuchungen dient, während das andere, ausgiebig und wiederholt in steriler Ringerscher Lösung gewaschen, der aseptischen Autolyse in feuchtem Milieu bei 37° überlassen wird. Unter diesen Bedingungen bemerkt man nach einer Woche, daß, während in dem Kontrollstück die Lipoidtröpfchen farblos oder kaum gelblich und in den Lösungsmitteln löslich sind, in dem in Autolyse begriffenen Stückchen dagegen, und zwar besonders in den oberflächlichen Schichten, gelbe oder goldgelbe, säure- und alkalibeständige Tropfen beobachtet werden, die größtenteils in den Lösungsmitteln unlöslich sind oder wovon sich nur noch einige teilweise oder ganz in Alkohol und Chloroform in der Wärme lösen.

In ähnlicher Weise verwandeln sich die Alkohol-Ätherextrakte von Corpus luteum in derselben Phase, wenn sie verdampft, in 0,9 %iger Kochsalzlösung emulsioniert und der Autooxydation bei 37° überlassen werden, allmählich in immer stärker gefärbte Produkte und zeigen sich nach wenigen Wochen in den Lösungsmitteln vollkommen unlöslich.

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen geht also deutlich hervor, daß die ungesättigten Fettstoffe infolge von Autooxydationsprozessen bedeutenden Veränderungen in Konsistenz, Farbe und Verhalten gegen Säuren, Alkalien und die gebräuchlichsten Reagenzien für die mikrochemische Untersuchung auf Lipoidstoffe entgegengehen, Veränderungen, die sich andererseits vollkommen mit denen der sogenannten Fettpigmente decken, die in vielen Zellelementen angetroffen werden (s. Tabelle I und II dieser Mitteilung und die Tabelle in der Arbeit von Hueck).

Daher ist die noch heute von der Mehrheit der Autoren verfochtene Theorie nicht berechtigt, daß die Fettpigmente **notwendig** als Pigment-Fettkomplexe zu betrachten seien. Damit will ich aber nicht ausschließen, daß solche Komplexe auch in den Zellen angetroffen werden können.

Behufs einer scharfen Individualisierung der reinen Fettpigmente halte ich es für zweckmäßig, die Eigenschaften der anderen Pigmente bzw. Pigment-Fettkomplexe festzulegen. Was die verschiedenen Kategorien reiner Farbstoffe anbelangt, so ergibt sich aus den neuerlichen Untersuchungen von Hueck, daß sie voneinander scharf differenzierbar sind, was ich nach einer systematischen Untersuchung der verschiedenen Farbstoffe in vitro: Melanine verschiedener Herkunft, Hämoglobin, Methämoglobin, Hämatin, Hämochromogen, Gallenfarbstoffe, Hämatoporphyrin, bestätigen kann.

Was die Pigmentkomplexe anbelangt, so müssen wir natürlich untersuchen die Möglichkeit der Vergesellschaftlichung eines Fettstoffes 1. mit den Melaninen und 2. mit den Blutfarbstoffen.

1. Die Melanine als solche könnten wegen ihrer Unlöslichkeit in den Fettstoffen kaum Pigment-Fettkomplexe bilden, und nur auf Grund einiger Tatsachen läßt sich entweder an eine eventuelle Assoziation gegebener Lipoidstoffe mit einigen aus Proteinen abstammenden Farbstoffbildnern, die sich späterhin in Melanine verwandeln, oder an den Abbau der einen Bestandteil der Lipoproteidkomplexe ausmachenden Proteidgruppe denken. In diesem Sinne sind meiner Ansicht nach die Befunde Kreibichs[1]) zu deuten, der im Innern von mit Sudan III färbbaren Lipoidtröpfchen die Anwesenheit von Melaninen, und zwar häufig in krystallinischer Form beobachtet hatte und deshalb schließen zu können glaubt, daß die Lipoidstoffe sich direkt in Melanine verwandeln können.

In gleicher Weise habe ich in einigen Fällen, und zwar besonders in den Corpora lutea der Amphibien im Innern von mit Sudan färbbaren Tröpfchen schwarzbraune Pigmentkörner beobachtet, die gegen diesen Farbstoff indifferent und in den Alkalien etwas löslich waren.

---

[1]) Kreibich, Berl. med. Wochenschr. **1911**, Nr. 34; **1912**, Nr. 9.

Tabelle I. Eigenschaften der Oxylipoide

Substanzen	Konsistenz	Farbe	Löslichkeit in den Fettlösungsmitteln	H_2O_2 und andere Bleichungsmittel	Säuren	Alkalien	$AgNO_3$
1. Ölsäure	sirupartig	schmutziggelb	unlöslich in Petroläther	entfärbt sich	—	Verseifung	negativ
2. Linol- und Linolensäure	wachsartig, fast fest	braunrot	teilweise löslich in Alkohol u. Chloroform	"	unlöslich; mit H_2SO_4 braunrote Färbung	unlöslich	"
3. Ölsäure + Mn, Fe oder Mg	wachsartig	braungelb	unlöslich	"	"	"	"
4. Linolsäure + Mn, Fe, Mg	fast fest	braunrot	"	"	"	Bildung von Myelinfiguren	"
5. Phosphatide: Diphosphatide, Kephalin, Lecithin	wachsart.	"	"	"	"	"	"
— Myelin, Sahidin	"	braungelb	"	"	"	"	"

Tabelle II. Eigenschaften

Konsistenz	Farbe	Löslichkeit in den Fettlösungsmitteln	H_2O_2 und andere Bleichungsmittel	Säuren	Alkalien	$AgNO_3$	OsO_4
Hält den Druck des Deckgläschens aus	gelb oder braungelb	zuweilen unlöslich, zuweilen in einigen Lösungsmitteln mehr od. weniger löslich	Entfärbung	beständig; mit H_2SO_4 braunrote Färbung	unlöslich, nur zuweilen gelockert	negativ	zuweilen schwarzbraun, zuweilen braun, zuweilen negativ

Diese Befunde könnten auf folgende Weisen gedeutet werden:

a) Die Chromogene der Melanine, die anscheinend der aromatischen Gruppe des Proteinmoleküls angehören, vereinigen sich mit den Lipoiden; infolge von Oxydationsprozessen be-

(nach vorgerückter Autooxydation in vitro).

OsO_4	Marchi	Neutralrot	Nilblau	Sudan III	Ciaccio	Smith-Dietrich	Fischler
schwarzbraun	schwarzbraun	positiv	blau	0 orangerot	orangerot	positiv nach 3 bis 4 tägiger Chrombehandlung	positiv
braun	braun	„	„	„	„	„	„
„	„	„	„	„	„	„	„
„	„	„	„	„	„	„	„
negativ	negativ	„ „	blau oder bläulich	orange wenig resistent gegen Entfärbung mit Alkohol 50°	orange	positiv nach 1 tägiger Chrombehandlung	negativ oder fast negativ positiv bei Gegenwart von Fe

der intracellulären Chromolipoide.

Marchi	Neutralrot	Nilblau	Sudan III	Ciaccio	Smith-Dietrich	Fischler
zuweilen braun oder schwarzbraun, zuweilen negativ	positiv	blau oder bläulich oder violettblau	gelb-orange oder orange-rot	gelb-orange oder orange-rot	zuweilen positiv nach 3 bis 4 tägig. Chrombehandlung, zuweilen nach 1 Tag	zuweilen positiv, zuweilen negativ

kommt man die Bildung von Melaninen und eventuell von Fettpigment.

b) In einigen Lipoproteidkomplexen, aus denen einige Zellstrukturen (Chondriosome, Plasmosome usw.) zu bestehen scheinen, werden durch Einwirkung von Fermenten auf die

Proteine Farbstoffbildner frei, die sich späterhin in Melanine verwandeln.

Welches auch immer die Entstehung dieser Komplexe sein mag, so lassen sich die Melanine und das Lipoid oder Fettpigment durch ihre morphologische Individualisierung bzw. durch ihre mikrophysikalischen und mikrochemischen Eigenschaften meist leicht charakterisieren.

In der Tat färben sich die Lipoid- oder Fettpigmenttröpfchen mit Sudan III, während die Melaninkörner oder -krystalle ihre ursprüngliche Farbe unverändert beibehalten.

Unter einigen Bedingungen jedoch ist es möglich, daß einige Tröpfchen, obwohl sie aus einem Pigment-Fettkomplex bestehen, ein morphologisch homogenes, monophasisches System bilden. In diesen Fällen ist die Farbe nicht gelb, sondern braungrau oder schwärzlichbraun, Osmiumsäure gibt Schwarzfärbung auch nach Behandlung mit den Lösungsmitteln bzw. man bekommt Reduktion von $AgNO_3$. Diese Eigenschaften kommen, wie man namentlich seit den Untersuchungen Huecks weiß, den Melaninen zu.

Was die Assoziation von Blutfarbstoffen mit Lipoidstoffen anbelangt, so habe ich[1]) bereits darauf aufmerksam gemacht. So werden in den blutbildenden Geweben infolge von Erythrolyseprozessen im Protoplasma der Phagocyten gelbbraune oder rötlichbraune Pigmentkörper oder -blöcke beobachtet, die sich in einigen Fällen elektiv mit den Fettfarben färben, während sie andererseits deutlich die Eisenreaktion geben. Auf Grund einer Reihe morphologischer und chemischer Daten bin ich zur Annahme geführt worden, daß diese Gebilde aus einem Pigment-Fettkomplex bestehen, und auch Hueck vertritt neuerdings eine ähnliche Anschauung.

Centanni[2]) andererseits hat während der Autolyse eines Tumors die Anwesenheit von Lipoidtröpfchen beobachtet, die in ihrem Innern Hämochromogenkrystalle enthielten. Zur Erklärung dieses Befundes stellte er geeignete Untersuchungen in vitro an und kam zu dem Schluß, daß sich das Hämatin unter gegebenen Verhältnissen in den Fettstoffen löst und es, wenn diese ungesättigt sind, zu Hämochromogen reduziert wird, das, in dem Mittel unlöslich, in Krystallen ausfällt.

---

[1]) C. Ciaccio, Folia Haematologica 7 u. 8.

[2]) Centanni, Società Italiana di Biochimica 1911.

Aus einer in der Hinsicht von mir angestellten Reihe von Untersuchungen geht hervor, daß es möglich ist, in vitro verschiedene Komplexe zwischen Fettsubstanzen und Blutfarbstoffen zu reproduzieren, deren Eigenschaften sich mit denen decken, die gewöhnlich in den Zellen angetroffen werden und die ich hier aufführen will.

A. Fett-Hämoglobinkomplexe.

Komplexe von Hämoglobin und verschiedenen Phosphatiden habe ich leicht erhalten können, indem ich in den Hauptlinien die von einigen Autoren, namentlich von Galeotti und Giampalmo[1]) für die Lecithalbumine verwandte Technik benutzte:

Es werden einerseits verschieden konzentrierte Hämoglobinlösungen und andererseits Emulsionen von Phosphatiden (Lecithin, Kephalin, Myelin, Sahidin, Cuorin) in Vereinigung mit Cholesterin oder nicht hergestellt. Durch Vermischung der beiden Substanzarten miteinander wird ein braunes Präcipitat erhalten, das sich nach einer gewissen Zeit auf dem Boden absetzt; die Fällung wird durch eine schwache Essig- oder Salzsäurelösung begünstigt.

Das erhaltene, wiederholt ausgewaschene und zentrifugierte Präcipitat weist ähnliche Eigenschaften auf wie die Lecithalbumine, nur daß es je nach der Menge an Hämoglobin einen vom Gelbbraun bis zum Rotbraun gehenden Farbenton zeigt. So ist es unlöslich in Wasser, neutralen Salzen und schwachen Säuren; löslich in alkalischen Lösungen; unlöslich in Petroläther, Benzin, Aceton und Methylacetat; mit heißem Alkohol Chloroform, Xylol und Benzol erhält man eine Lösung, die zum größten Teil aus Phosphatid besteht, während eine braune Substanz, bestehend aus Hämoglobin oder Methämoglobin, unaufgelöst bleibt.

Dieser Komplex verwandelt sich, an der Luft stehen gelassen, in einen schwarzbraunen Körper von fester Konsistenz, der in den verschiedenen oben angegebenen Lösungsmitteln unlöslich ist.

Was sodann das Verhalten gegen die Reagenzien der Fettstoffe anbelangt, so ist zu verzeichnen: negatives Verhalten gegen OsO_4, Marchi, Sudan III, Ciaccio; positives Verhalten

[1]) Galeotti und Giampalmo, Archivio di Fisiologica 5, 1908.

gegen das Verfahren von Smith-Dietrich und Fischler; blaue oder grünlichblaue Färbung mit Nilblau und schwache Rosafärbung mit Neutralrot.

B. Fett-Hämatinkomplexe.

Zunächst kann ich voll und ganz die vorerwähnten Untersuchungsergebnisse von Centanni bestätigen. In der Tat konnte ich Komplexe von Hämatin und Fettsäuren erhalten, die wahrscheinlich als Lösungen aufgefaßt werden müssen.

Andererseits habe ich mit Leichtigkeit auch aus Hämatin und Phosphatiden bestehende Komplexe erhalten können.

Diese Komplexe von schwärzlichbrauner Farbe emulsionieren leicht in Wasser und 0,9 %iger Kochsalzlösung und zeigen sich unter dem Mikroskop durch bräunlichgelbe Tröpfchen gebildet. Sie sind in schwachen Alkalien mehr oder weniger leicht löslich. Mit selbst schwachen Salzsäurelösungen geht das Hämatin in Lösung, während das Lipoid entfärbt erscheint. In geeigneten organischen Lösungsmitteln sind sie ganz oder teilweise löslich.

An der Luft stehen gelassen, zeigen sie sich nach langer Zeit unlöslich in den organischen Lösungsmitteln, doch geht unter dem Einfluß von HCl das Hämatin in Lösung und es bleibt eine braungelbe Masse zurück, die sämtliche Eigenschaften der oxydierten Lipoide besitzt.

Mit den Reagenzien der Fettstoffe bekommt man positives Verhalten.

In diesen Fällen also ist es leicht, durch geeignete Mittel das Hämatin zu extrahieren und das Lipoid frei zu erhalten.

Ähnliche Komplexe lassen sich auch mit dem Hämatoporphyrin und dem Bilirubin erhalten.

Aus diesen Untersuchungen ersehen wir also, daß das Hämoglobin und das Hämatin Komplexe mit den Lipoiden bilden können. Beim Hämoglobin handelt es sich um lecithalbuminähnliche Substanzen, beim Hämatin dagegen wahrscheinlich um eine Lösung dieser Substanz im Lipoid.

Durch Oxydation dieser Komplexe gehen die Lipoide analogen Veränderungen entgegen, wie wir sie bei diesen Substanzen im Reinzustand gesehen haben, während sich das Hämoglobin in Methämoglobin verwandelt.

Es ist die Annahme naheliegend, daß auch im Innern der Zellelemente analoge Verhältnisse auftreten können, was durch zwei Reihen von Erscheinungen begründet wird:

1. Die roten Blutkörperchen sind außer durch Hämoglobin und andere Proteide auch durch verschiedene Lipoidstoffe gebildet, und es liegt nahe anzunehmen, daß während der Lysevorgänge die verschiedenen freiwerdenden Bestandteile auf verschiedene Weise zusammentreten und späterhin verschiedenen Veränderungen entgegengehen.

2. Während der Erythrolysevorgänge stehen wir vor Komplexen, die in einigen Fällen ihren mikrophysikalischen und mikrochemischen Eigenschaften nach auf die oben angedeuteten zurückgeführt werden können; in anderen Fällen handelt es sich um kompliziertere Vereinigungen, beruhend wahrscheinlich auf der Anwesenheit von Spaltungsprodukten, denen der pigmentierte Kern des Hämoglobins entgegengeht; in noch anderen Fällen endlich handelt es sich um reine Blutfarbstoffe.

Ich deute vorläufig diese Erscheinungen bloß an, da ich in einer demnächstigen Mitteilung über die Hämolyse darauf werde zurückkommen müssen. Bemerken will ich hier nur, daß es mit verschiedenen Mitteln wie Säuren, Alkalien, künstlicher Verdauung möglich ist, die Lipoide bzw. die reinen Fettpigmente oder Chromolipoide von anderen assoziiërten Pigmenten zu individualisieren.

Schlüsse.

Aus den oben mitgeteilten Untersuchungen geht hervor, daß die ungesättigten Fettstoffe autooxydabel sind und durch die Autooxydation bedeutende Veränderungen in der Farbe, der Konsistenz, den Löslichkeitsverhältnissen, dem Verhalten gegen Alkalien und Säuren erleiden, während sie ihre ursprüngliche Charakteristik, sich positiv gegen die gebräuchlichen Reagenzien auf die Lipoidstoffe zu verhalten, beibehalten.

Die Autooxydation wird durch einige Substanzen wie Fe, Mn, Mg bedeutend beschleunigt.

Die Eigenschaften dieser Oxydationsprodukte decken sich mit denen der sogenannten Fettpigmente oder Lipofuscine, denen man in einigen normalen und pathologischen Zellelementen zu begegnen pflegt.

Auf Grund dieser Daten halte ich mich für berechtigt, auf das Vorhandensein von speziellen intracellulären Farbstoffen zu schließen, die als Autooxydationsprodukte von ungesättigten Lipoiden betrachtet werden müssen.

Im Hinblick auf ihren Ursprung wäre die passendste Bezeichnung Oxylipoide; will man aber einerseits an ihre Charakteristik als Fettpigmente erinnern und sie andererseits von den Lipochromen unterscheiden, so könnte man ihnen die schon früher von mir verwendete Bezeichnung Chromolipoide beilegen.

Auf Grund der mikrochemischen Eigenschaften ist es möglich, diese Pigmente nicht nur von den anderen elementaren Pigmenttypen, sondern auch von den Fettpigmentkomplexen zu differenzieren. Überdies ist es, wie aus den beigegebenen Tabellen hervorgeht, möglich, verschiedene Oxydationsstufen dieser Substanzen abzutrennen und, wenn sie im Reinzustand vorliegen, auch zwei Grundtypen in bezug auf ihre chemische Natur, nämlich:

a) Chromolipoide, die aus den Phosphatiden entstehen,

b) Chromolipoide, die aus den Fettsäuren entstehen.

Die ersten wären hauptsächlich ausgezeichnet durch die schwache Färbbarkeit mit Sudan III und mit Scharlach R, durch das negative oder fast negative Verhalten gegen das Verfahren von Fischler und durch das positive Verhalten nach kurzer Chrombehandlung gegen das Verfahren von Smith-Dietrich.

Die zweiten dagegen sind ausgezeichnet durch intensive Färbung mit Sudan und Scharlach, durch das deutlich positive Verhalten gegen das Verfahren von Fischler und gegen das Verfahren von Smith-Dietrich nach langer Chrombehandlung. Zu bemerken ist jedoch, daß die Verfahren von Fischler und Smith-Dietrich auch mit differenten Substanzen wie Ca, Fe usw. positive Resultate geben, die jedoch, wenigstens in einigen Fällen, durch eine Vorbehandlung mit Salzsäurelösung entfernt werden könnten.

Aus den Eigenschaften dieser Substanzen können wir uns leicht die verschiedenen Schlußfolgerungen erklären, zu denen die verschiedenen Autoren gelangt sind, die gesucht haben, den mit dem vermeinten Fettpigmentkomplex verbundenen Lipoidstoff chemisch zu charakterisieren.

Hinsichtlich der biologischen Bedeutung dieser Substanzen schließe ich mich der Anschauung vieler Forscher an, daß sie katabolische Produkte darstellen, daher der Name „Abnutzpigment“. Somit könnte man annehmen, daß die Autooxydation der ungesättigten Lipoide je nach den Fällen einen verschiedenen Wert hat. Unter einigen Verhältnissen fixieren so diese Substanzen den Sauerstoff labil und wirken als Peroxyde oder Oxydasen, wo der Sauerstoff leicht an andere Substanzen abgegeben werden kann; unter anderen Verhältnissen dagegen, wie es bei den Chromolipoiden der Fall ist, wird der Sauerstoff stabil gebunden und kann somit nicht an andere Körper abgegeben werden. Mit anderen Worten, es würde etwas Ähnliches eintreten wie beim Hämoglobin, wo der Sauerstoff auf zwei verschiedene Weisen gebunden werden kann, wie beim Oxyhämoglobin bzw. beim Methämoglobin.

Eine wichtige Frage ist auch die nach dem Schicksal der Chromolipiode. In der Tat hat man sich zu fragen, ob sie als solche in den Zellen verbleiben oder weitere Umwandlungen erleiden. Ich neige zur zweiten Eventualität, weil Zellen, die gewöhnlich reich an diesen Substanzen sind, unter einigen Verhältnissen frei davon sind und dagegen nicht oxydierte Lipoidkörnchen oder -tröpfchen enthalten können. Diese Tatsache könnte auf zweierlei Weise gedeutet werden: entweder zerfallen die Chromolipoide durch weitere energische Oxydation in Substanzen, die in den Körperflüssigkeiten löslich sind, oder aber sie gehen einem besonderen Prozeß entgegen, in dem der fixierte O frei wird, so daß diese Substanzen die Eigenschaften der ursprünglichen wieder erlangen.

Nährstoffbilanzen für Rohstoffe und ihre Erzeugnisse bei der alkoholischen Gärung.

Von

Wilhelm Völtz.

(Aus der ernährungsphysiologischen Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 19. Februar 1915.)

Einigermaßen genaue Aufstellungen über den durchschnittlichen Gehalt an ausnutzbaren Nährstoffen in den Rohstoffen für die alkoholische Gärung einerseits und in ihren Erzeugnissen andererseits liegen meines Wissens bisher nicht vor, sie sollen daher in der vorliegenden Arbeit erfolgen. Bei den erforderlichen Berechnungen, die ich für zwei der wichtigsten Zweige des Gärungsgewerbes, die Bierbrauerei und die Kartoffelbrennerei, durchgeführt habe, hat mich der Assistent an der ernährungsphysiologischen Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe, Dr. W. Dietrich, unterstützt. Sofern mir über den Caloriengehalt der betreffenden Stoffe direkte Bestimmungen nicht zur Verfügung standen, wurden

pro 1 g Rohprotein . . . . 5,7 Cal.,
„ 1 g Fett . . . . 9,5 „
und „ 1 g N-freie Extraktstoffe und Rohfaser 4,23 „

eingesetzt.

I. Die Bierbrauerei.

Es wurde von 100 kg Gerste ausgegangen. Zur Berechnung der durchschnittlichen chemischen Zusammensetzung der Braugerste dienten die Mittelwerte aus den Analysen norddeutscher und süddeutscher Braugersten nach J. König[1]), umgerechnet auf die normale Trockensubstanz der Braugersten von 85 %.

[1]) J. König, Die menschlichen Nahrungs- u. Genußmitel, 4. Aufl. 2, 768, 1904.

Hiernach enthalten 100 kg Gerste an Rohnährstoffen:

Trockensubstanz kg	Asche kg	Organ. Subst. kg	Rohprotein kg	Rohfett kg	Rohfaser kg	N-freie Extraktstoffe kg	Cal
85	2,9	82,1	9,8	1,8	4,7	65,8	371 000

Die an Omnivoren (Schweinen) ermittelten Verdauungswerte der Gerste sind:

82 77 44 12 89 82

Somit enthalten die 100 kg Gerste folgende Quantitäten an verdaulichen Nährstoffen:

Organische Substanz kg	Rohprotein kg	Rohfett kg	Rohfaser kg	N-freie Extraktstoffe kg	Cal
67,3	7,5	0,8	0,6	58,4	304 000

bzw. 286 100 nutzbare Calorien.

Die folgenden Angaben über die Ausbeute an Malzkeimen, Malz, Biertrebern, Hefe, Geläger, Trub, über den verwendeten Hopfen und über die Zusammensetzung des Malzes verdanke ich F. Schönfeld.

Auf 85 kg Gerste-Trockensubstanz sind zu rechnen 3,96 kg Malzkeime-Trockensubstanz und 76,5 kg Malz-Trockensubstanz. Malz und Malzkeime enthalten in 100 Trockensubstanz:

	Asche	Organ. Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe
Malz . . .	3,5	96,5	11,3	2,2	5,3	77,7
Malzkeime	6,3	93,7	28,9	1,4	14,4	49,0

In den auf 85 kg Gerste-Trockensubstanz durchschnittlich entfallenden Quantitäten Malz und Malzkeime würden hiernach vorhanden sein:

	Trockensubstanz kg	Organ. Subst. kg	Rohprotein kg	Rohfett kg	Rohfaser kg	N-freie Extraktstoffe kg
Malz	76,50	73,80	8,60	1,70	4,10	59,40
Malzkeime . .	3,96	3,71	1,15	0,05	0,57	1,94
Sa.	80,46	77,51	9,75	1,75	4,67	61,34
Die Gerste enthielt	85,00	82,10	9,80	1,80	4,70	65,80
Also durch die Mälzung verloren	4,54	4,60	—	—	—	4,50

Hiernach sind durch die Mälzung 5,6 % der organischen Substanz bzw. 6,3 % der Kohlenhydrate verloren gegangen.

Außer den Malzkeimen werden bei der Bierbrauerei noch folgende Produkte gewonnen:

Von 100 kg Malz[1]) 125 kg nasse, bzw. 33 kg getrocknete[2]) Treber und 5,3 hl Verkaufsbier mit 3,5 % Alkohol und 5 % Extrakt (Trockenrückstand).

100 hl Bier liefern 25 kg Trockenhefe[3]) (abzüglich der Saathefe), 2,5 kg trockenes Hefegeläger[3]) aus dem Lagerfaß, 20 kg trockenes Kühlgeläger (Hopfen + Trub[3]), davon 2/3 Hopfen, 1/3 Trub.

An Hopfen werden auf 100 kg Malz etwa 1 kg mit 15 % Wasser, entsprechend 850 g Trockensubstanz, verwendet; ca. 15 % der Trockensubstanz werden im Bier gelöst und zu Genußstoffen; der unlösliche Rückstand, die sogenannten Hopfentreber, dienen als Viehfutter.

Nachstehend eine Übersicht über den Gehalt der genannten Produkte an Rohnährstoffen in Prozent und in Kilogramm.

Tabelle I.

In 100 Trockensubstanz sind enthalten:

	Organ. Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe
Biertreber	94,90	23,20	8,20	17,6	45,9
Bier	98,01[4])	3,74	0,07	—	94,2[5])
Hefe u. Hefegeläger	92,50	57,40	3,40	1,5	30,2
Kühlgeläger (Trub)	95,30	47,60	4,30	7,5	35,9
Ausgebrauter Hopfen (Hopfentreber)	94,00	17,20	7,60	23,6	45,6

Das Faßgeläger besteht in der Hauptsache aus Hefe und ist derselben im Nährwert gleichzusetzen.

Nunmehr lassen sich die auf 100 kg Braugerste mit 85 % Trockensubstanz entfallenden Quantitäten der verschiedenen Erzeugnisse und ihr Nährstoffgehalt berechnen.

---

1) 95 % Trockensubstanz.

2) 91 % Trockensubstanz.

3) 90 % Trockensubstanz.

4) Bier mit 3,5 % Alkohol und 5 % Trockenrückstand.

5) 53,0 Kohlenhydrate und 41,2 Alkohol.

Tabelle II.

Auf 100 kg Braugerste mit 85 % Trockensubstanz und 371000 Cal entfallen folgende Mengen an Brauereiprodukten und deren Rohnährstoffen:

	Trockensubstanz	Organ. Subst.	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Energiegehalt	
	kg	kg	kg	kg	kg	kg	Cal	in % d. Gerste
4,5 kg Malzkeime.	3,96	3,71	1,15	0,05	0,57	1,94	17170	4,6
26,6 kg Biertreber.	24,20	23,00	5,60	2,00	4,30	11,10	116100	31,3
4,18 hl Bier . . .	35,55[1]	34,82[1]	1,70	0,02	—	33,10	183100	49,3
1,16 kg Hefe u. Geläger	1,04	0,96	0,60	0,04	0,02	0,30	4910[2]	1,3
0,83 kg Trub . .	0,75	0,72	0,36	0,03	0,06	0,27	3970[2]	1,1
Sa.	65,45	63,21	9,41	2,14	4,95	46,71	325250	87,6
In dem Ausgangsmaterial: 100 kg Gerste	85,00	82,10	9,80	1,80	4,70	65,80	371000	100,0
Somit durch das Brauen in Verlust (—)	—	—	— 0,40	+ 0,30	—	—	— 45750	12,4

Der Verlust an Rohprotein und die geringe Zunahme an Rohfaser sind darauf zurückzuführen, daß es sich hier nicht um einen quantitativen Brauversuch handelt, sondern es mußten für die Gerste und ihre Produkte Durchschnittswerte eingesetzt werden; auf diese Differenzen ist daher kein Wert zu legen. Die Erhöhung an Ätherextrakt ist in der Hauptsache bedingt durch das Übergehen von ätherlöslichen Hopfenbestandteilen in das Bier.

Die Verluste an Trockensubstanz, organischer Substanz und N-freien Extraktstoffen in Kilogramm sind absichtlich nicht in die Rubriken eingetragen worden, weil sie im Hinblick auf den höheren Brennwert des Alkohols ein unzutreffendes Bild über die wirklichen Nährstoffverluste geben würden. Für letztere maßgebend sind nur die in der letzten Rubrik mitgeteilten Daten über den Energiegehalt der Gerste und ihrer Produkte. Hiernach sind durch das Brauen rund 12 % an Rohnährstoffen verloren gegangen.

---

[1]) 14,6 kg Alkohol und 20,95 kg Extrakt (Trockenrückstand); der Trockenrückstand enthält 3,8 Cal pro 1 g.

[2]) In der Hefe wurde der Energiegehalt in der Trockensubstanz zu 4,72 Cal, im Trub zu 5,29 Cal direkt bestimmt.

Im Anschluß folgt die Berechnung über die

Verluste an verdaulichen Nährstoffen

durch die Bierbrauerei.

Die Erzeugnisse der Bierbrauerei sind zu folgenden Prozentsätzen verdaulich:

Tabelle III.

Verdauungswerte.

	Organ. Subst.	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Cal
Malzkeime[1])	72	80	71	55	73	72
Biertreber[2])	64	71	88	48	60	64
Bierextrakt[3])	86	40	—	92	—	86
Hefe u. Hefegeläger[4])	90	86	70	40	100	88
Trub[5])	63	58	25	53	77	63
Alkohol	100	—	—	—	—	100

Mit den vorstehenden Verdauungswerten ergeben sich für die in Tabelle II aufgeführten Produkte der Bierbrauerei folgende Mengen an verdaulichen Nährstoffen:

Tabelle IV.

Verdauliche Nährstoffe in Kilogramm.

	Organ. Subst. kg	Rohprotein kg	Rohfett kg	Rohfaser kg	N-freie Extraktstoffe kg	Energiegehalt Cal	Energiegehalt in % d. Gerste
Malzkeime	2,67	0,92	0,03	0,31	1,41	12370	4,1
Biertreber	14,72	3,97	1,76	2,06	6,93	74300	24,4
Bier { Alkohol	14,60	—	—	—	14,60	103300	33,9
Bier { Extrakt	17,40	0,68	—	—	16,72	68600	22,6
Hefe und Geläger . .	0,86	0,52	0,03	0,01	0,30	4320	1,4
Trub	0,45	0,21	0,01	0,03	0,20	2500	0,8
Sa.	50,70	6,30	1,83	2,41	40,16	265390	87,2
Das Ausgangsmaterial: 100 kg Gerste mit 85 % Trockensubst. enthält an verdaul. Nährstoffen	67,8	7,5	0,8	0,6	58,4	304000	100
Verlust	—	—	—	—	—	—	12,8

[1]) Nach Versuchen an Wiederkäuern.

[2]) Nach Versuchen an Wiederkäuern.

[3]) W. Völtz, R. Förster und A. Baudrexel, Über die Verwertung des Bierextraktes und des Bieres im menschl. u. tier. Organismus. Arch. f. d. ges. Physiol. 134, 133 bis 258, 1910.

[4]) Völtz und Baudrexel, Die Verwertung der Hefe im menschl. Organism. Diese Zeitschr. 30, Heft 6, S. 457 bis 472, und 31, Heft 3/4, S. 355 bis 385.

[5]) Nach Versuchen am Schwein von Völtz und Drauzburg (noch nicht veröffentlicht).

Von den verdaulichen Nährstoffen der Gerste wurden also insgesamt wiedererhalten: 84 % des Rohproteins[1]) und 87 % der Gesamtnährstoffe (Calorien). Die Erhöhung des Gehaltes an Ätherextrakt ist auf ätherlösliche Hopfenbestandteile, die Erhöhung im Rohfasergehalt auf die höhere Verdaulichkeit der Rohfaser in den Biertrebern (durch Wiederkäuer) im Vergleich zur Gerste (nach Versuchen an Schweinen) zurückzuführen.

Die Verluste im Gehalt an ausnutzbaren Nährstoffen durch die Bierbrauerei.

Bei dieser Berechnung sind nach Kellner[2]) als Energieverlust durch die Harnbildung in Ansatz gebracht worden auf 1 g verdauliches Rohprotein:

bei den Malzkeimen . . 1,42 Calorien
" " Biertrebern . . 1,39 "

Für die Gerste und den Trub wurden ebenfalls 1,4 Calorien eingesetzt. Als Energieverlust für brennbare Gase sind bei der Gerste, von der angenommen wurde, daß sie an Schweine verfüttert wird, nach den Feststellungen von Tangl[3]) und Zuntz und seinen Mitarbeitern v. d. Heide und Klein[4]) pro 100 g verdauliche N-freie Extraktstoffe und Rohfaser 12,5 Calorien in Ansatz gebracht worden, dgl. für den Trub, während für die Biertreber und Malzkeime, die in der Hauptsache als Futtermittel für Wiederkäuer dienen, der von Kellner[5]) ermittelte Durchschnittswert, nämlich 57,3 Calorien, in Rechnung gestellt wurde. Für das Bier und die Hefe sind die an der ernährungsphysiologischen Abteilung direkt ermittelten physiologischen Nutzwerte eingesetzt worden. Die betreffenden Daten sind 1. für den Trockenrückstand des Bieres (Extrakt) 83 %, 2. für den Alkohol 98 % und 3. für die Hefe 75 % ihres Energiegehaltes.

[1]) In Wirklichkeit dürfte der Prozentsatz des wiedererhaltenen verdaulichen Rohproteins etwas höher sein. Siehe dazu Seite 337.

[2]) O. Kellner, Die Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere. 5. Aufl. S. 85.

[3]) F. Tangl, Der minimale Erhaltungsbedarf des Schweines. Diese Zeitschr. 44, 152.

[4]) R. v. d. Heide und W. Klein, Stoff- und Energieumsatz des Schweines bei Wachstum und Mast. Diese Zeitschr. 55, 207.

[5]) O. Kellner, Die Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere. 5. Aufl. S. 95.

Der Hopfen, von dessen Trockensubstanz ca. $^1/_5$ in das Bier übergeht, ist übrigens bei der Aufstellung nicht berücksichtigt worden. Unter den Rohnährstoffen der Ausgangsmaterialien für die Bierbrauerei kommt der Hopfen deshalb nicht in Betracht, weil er direkt weder als Nahrungsmittel noch als Futtermittel verwendet wird. Erst durch den Brauprozeß werden lösliche Bestandteile des Hopfens, die in das Bier übergehen, zum menschlichen Genußmittel, während seine ausgelaugten Rückstände, die sog. Hopfentreber, als Futtermittel in Betracht kommen.

Zu den 76,5 kg Malz, die im vorliegenden Falle verwendet wurden, wären nach den obigen Angaben also 0,74 kg Hopfen-Trockensubstanz benötigt worden (s. S. 336), von denen $^1/_5$ ins Bier, $^1/_5$ in Trub und Hefegeläger und $^3/_5$ in die Hopfentreber übergehen. Da die Hopfentreber außer Hopfenbestandteilen auch noch andere Beimengungen (Eiweißkörper usw.) enthalten, so rechnet man $^4/_5$ der Trockensubstanz des verwendeten Hopfens als Hopfentreber-Trockensubstanz, das wären hier also 0,59 kg. Nach E. Pott[1]) enthalten die Hopfentreber im Durchschnitt in 100 Trockensubstanz:

Organ. Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Calorien pro 100 g
94,0	17,2	7,6	23,6	45,6	461,5
Demnach sind in 0,59 kg vorhanden:					
0,555 kg	0,102 kg	0,045 kg	0,139 kg	0,269 kg	2722
Die Verdauungswerte für die Nährstoffe der Hopfentreber sind[2]):					
43	39	2	41	58	43
Hiernach enthalten die 0,59 kg Hopfentreber (Trockensubstanz) folgende Mengen an verdaulichen Nährstoffen:					
0,238 kg	0,040 kg	0,001 kg	0,057 kg	0,140 kg	1169

Die 0,59 kg Hopfentreber (Trockensubstanz) würden als Futtermittel für Wiederkäuer 817 nutzbare Calorien liefern, das wären nur 0,3 $^0/_0$ der nutzbaren Calorien der verwendeten Gerste. Also auch im Hinblick auf diesen niedrigen Wert kann der Hopfen in der folgenden Aufstellung unberücksichtigt bleiben.

---

[1]) E. Pott, Handb. d. tier. Ernährung u. d. landw. Futtermittel 3, 245.

[2]) Noch nicht veröffentlichte Versuche an Wiederkäuern von Völtz, Muhr, Baumann und Drauzburg.

Die folgende Tabelle V enthält die Daten für den Gehalt der aus 100 kg Gerste mit 286 100 nutzbaren Calorien in ihren Produkten wiedergewonnenen ausnutzbaren Nährstoffe. Aus der letzten Rubrik ist der Anteil der einzelnen Produkte an ausnutzbaren Nährstoffen in Prozent der nutzbaren Calorien der Gerste ersichtlich:

Tabelle V.

	Mit dem normalen Wassergehalt kg	Lufttrocken kg	Trockensubstanz kg	Nutzbare Calorien	Ausnutzbare Nährstoffe in % der 286 100 nutzbaren Cal der angewendeten Gerste
Malzkeime	—	4,5	3,96	10 080	3,5
Biertreber	100,5	26,6	24,2	63 630	22,3
Bier	4,18	—	35,5 [1]	167 500	58,5
Hefe und Geläger .	5,20	1,16	1,04	3 680	1,3
Trub	4,15	0,83	0,75	2 070	0,7
Sa.	—	—	65,45	246 960	86,3

Es werden also annährend 60 % der ausnutzbaren Nährstoffe der Gerste im Bier wiedererhalten. Eltzbacher und seine Mitarbeiter[2]) haben kürzlich ebenfalls angegeben, daß 60 % der nutzbaren Nährstoffe der Gerste im Bier wiedererscheinen. Die Nebenprodukte der Bierbrauerei enthalten nach Tabelle V rund 25 % der ausnutzbaren Nährstoffe des Rohmaterials. Somit beträgt der Verlust an nutzbaren Nährstoffen bei der Bierbrauerei rund 15 %. Bei meiner Aufstellung ist jedoch noch zu berücksichtigen, daß für die Gerste ein relativ hoher physiologischer Nutzeffekt eingesetzt wurde, wie er bei der Verfütterung an Schweine resultiert. Wollte man die Gerste direkt als menschliches Nahrungsmittel verwenden, so hätte man von den nutzbaren Calorien des Gerstenmehles oder der Graupen auszugehen, und die Verwertung der Gerste wäre auch nicht höher als durch ihre Überführung in Bier. Weiterhin kommt

[1]) 14,60 kg Alkohol und 20,95 kg Extrakt (Trockenrückstand).

[2]) Die deutsche Volksernährung und der englische Aushungerungsplan. Eine Denkschrift von Friedrich Aereboe, Karl Ballod, Franz Beyschlag, Wilhelm Caspari, Paul Eltzbacher, Hedwig Heyl, Paul Krusch, Robert Kuczynski, Kurt Lehmann, Otto Lemmermann, Karl Oppenheimer, Max Rubner, Kurt von Rümker, Bruno Tacke, Hermann Warmbold und Nathan Zuntz. Herausgegeben von Paul Eltzbacher. Druck und Verlag von Friedr. Vieweg u. Sohn in Braunschweig 1914.

sehr wesentlich in Betracht, daß durch das Brauen eine Veredelung der Rohprodukte erfolgt, da wir in dem Bier eines der beliebtesten menschlichen Genußmittel besitzen. Das Gerstenmehl ist zudem als direktes menschliches Nahrungsmittel keineswegs sehr geschätzt, es ist speziell zur Brotbereitung dem Weizen- oder Roggenmehl gegenüber als nicht vollwertig zu bezeichnen. Andererseits haben die Angaben über den physiologischen Nutzeffekt des Bieres nur unter der Voraussetzung Gültigkeit, daß das Bier in mäßigen Mengen genossen wird.

B. Die Kartoffelbrennerei.

Direkte Untersuchungen über den Gehalt der Kartoffelschlempe an verdaulichen und ausnutzbaren Nährstoffen im Vergleich zu ihrem Ausgangsmaterial (Kartoffeln, Malz und Hefe) liegen erst seit kurzem vor. Die betreffenden Versuche sind, nach einem von Zuntz und mir aufgestellten Versuchsplan von uns und unseren Mitarbeitern an einem Ochsen und an zwei Schafen angestellt worden[1]).

Später wurden an der ernährungsphysiologischen Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe zu Berlin[2 u. 3]) weitere Versuche über den Futterwert der Kartoffelschlempe unter abweichenden Ernährungsbedingungen ebenfalls am Rind und an

---

[1]) Arbeiten der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin. Untersuchungen über den Nährwert der Kartoffelschlempe und ihres Ausgangsmaterials. I. W. Völtz und N. Zuntz, Leitende Gesichtspunkte. — II. W. Völtz, J. Paechtner und A. Baudrexel, Über den Futterwert der Kartoffelschlempe, ihres Ausgangsmaterials und über sog. spezifische Wirkungen der Futterstoffe. — III. R. v. d. Heide, Klein und N. Zuntz, Respirations- und Stoffwechselversuche am Rinde über den Nährwert der Kartoffelschlempe und ihrer Ausgangsmaterialien. — IV. M. Diakow, Ein Beitrag zur Kenntnis des Mineralstoffwechsels beim Rinde. Landwirtschaftl. Jahrbücher **44**, 681 bis 844, 1913.

[2]) W. Völtz, J. Paechtner, A. Baudrexel, W. Dietrich und A. Deutschland, Vergleichende Untersuchungen über den Nährstoffbedarf bei der Mast des Rindes und des Schafes im späteren Verlauf des Wachstums. Fütterungsversuche mit flüssiger warmer Kartoffelschlempe und mit getrockneter Kartoffelschlempe im Vergleich zu Palmkernkuchen. Landwirtschaftl. Jahrbücher **45**, 325 bis 437, 1913.

[3]) W. Völtz, Die Veränderung der Nährstoffe der Kartoffeln durch die Schlempebereitung, und über die Verwertung der Kartoffelschlempe unter verschiedenen Bedingungen (Erhaltungsfutter, Mast) durch Rind und Schaf. Zeitschr. f. Spiritusind. **1914**, S. 313 und 325.

Schafen ausgeführt, und es ergab sich, daß die Kombination der verabreichten Futtergemische von wesentlichem Einfluß auf die Verdaulichkeit und die Ausnutzung der Schlempenährstoffe ist. Dieselben wurden als Zulage zu einem proteinarmen Grundfutter am höchsten resorbiert, und am niedrigsten, wenn die Schlempe zu einem proteinreichen Futter mit hoch assimilierbaren Nährstoffen (Mastrationen) zugelegt wurde. N. Zuntz hat nachgewiesen (l. c.), daß die gleichen Rationen vom Wiederkäuer schlechter verwertet werden, wenn das Futter in einem gleichmäßigen Gemisch verabreicht wird im Vergleich zu einer mehr getrennten Verabreichung der proteinreichen und kohlenhydratreichen Futterstoffe zu den verschiedenen Futterzeiten. In der vorliegenden Arbeit sind die am Schaf gefundenen mittleren Verdauungswerte für die Schlempe benutzt worden, und zwar:

Für die organ. Substanz	Für das Rohprotein	Für das Rohfett	Für die Rohfaser	Für die N-freien Extraktstoffe	Für die Calorien
73	66	—	66	80	74

Zuntz und seine Mitarbeiter (l. c.) haben außer der Bestimmung der sensiblen Ausscheidungen an dem Ochsen Respirationsversuche durchgeführt und sowohl die Energieverluste durch Methan-, als auch, und zwar zum erstenmal, diejenigen durch Wasserstoffgärung genau bestimmt. Bei Verfütterung von Heu und Schlempe fanden Zuntz und seine Mitarbeiter auf 100 g verdaute N-freie Extraktstoffe und Rohfaser durch Methan- und Wasserstoffgärung zusammen einen Energieverlust von 56,30 Calorien. Nach Kellner sind auf 100 kg verdaute N-freie Extraktstoffe + Rohfaser für Methangärung durchschnittlich 57,3 Calorien einzusetzen. Die Differenzen sind also nur unbedeutend. Nur bei Vorhandensein von Zucker in größeren Mengen finden nach Zuntz wesentlich größere Energieverluste durch Wasserstoffgärung statt.

Während die Nährstoffe der Schlempe, wie mitgeteilt, bei den ersten Versuchen (l. c.) relativ hoch resorbiert wurden, erfuhren die Nährstoffe des vorwiegend aus Kartoffeln bestehenden Ausgangsmaterials für die Schlempebereitung recht starke Verdauungsdepressionen, da z. B. bei unseren Versuchen an 2 Schafen die organische Substanz nur zu 69 %, das Rohprotein zu 20 %, die N-freie organische Substanz zu 74 % und

die Calorien im Mittel nur zu 67 % resorbiert wurden. Der physiologische Nutzeffekt betrug nur 65 %. Daher wurden die in 4 Ausnutzungsversuchen von Völtz und Baumann[1]) mit rohen und gekochten Kartoffeln an 2 Schafen gefundenen mittleren Verdauungswerte für das ja vorwiegend aus Kartoffeln bestehende Rohmaterial für die Schlempebereitung eingesetzt, und zwar für

die organische Substanz	das Rohprotein	die gesamten N-freien Stoffe	die Calorien
85 %	49 %	90 %	88 %

Der physiologische Nutzeffekt der Kartoffeln betrug 75 % des Energiegehaltes.

Zu den Berechnungen über den Nährstoffgehalt für die Rohstoffe der Kartoffelbrennerei und ihre Erzeugnisse (Schlempe und Alkohol) ist folgendes zu bemerken:

Der beim Mälzen der Gerste durch Atmung eintretende Verlust an Kohlenhydraten ist gering. Nach Foth werden im Durchschnitt auf 100 kg Kartoffeln, 2 kg Gerste gemälzt. Beim Mälzen gehen zirka 15 % ihrer Trockensubstanz verloren. Hieraus berechnen sich:

2 kg Gerste = 1,7 kg (85 %) Trockensubtanz liefern
2,9 kg Grünmalz = 1,45 kg (50 %) Trockensubstanz.
Der Atmungsverlust beträgt somit 0,25 kg „
100 kg Kartoffeln enthalten . . . 25,00 kg „

Hiernach gehen infolge der Mälzung der Gerste 1 % des Nährstoffgehaltes der Rohstoffe (Kartoffeln, Malz und Hefe) verloren. Der direkt ermittelte Energiegehalt in 100 kg Ausgangsmaterial für die Schlempebereitung mit 25 kg Trockensubstanz im Betrage von 103 540 Calorien (siehe Tabelle I) wäre demnach um 1 % zu erhöhen (die Verbrennungswärme der Rohstoffe ist pro 1 g Trockensubstanz nahezu übereinstimmend mit dem Energieverlust der beim Mälzen veratmeten Kohlenhydrate).

Bei den folgenden Berechnungen wurde von dem direkt bestimmten Energiegehalt (103 540 Calorien) der Rohstoffe ausgegangen. Da der Verlust beim Mälzen nur 1 % des Energiegehaltes der Rohstoffe beträgt, werden die Resultate durch Einbeziehung dieses Verlustes nur ganz unwesentlich verändert.

---

[1]) Noch nicht veröffentlicht.

Zum Schluß ist bei der Berechnung der endgültigen Zahlen für die Nährstoffverluste außerdem noch der um 1 % erhöhte Energiegehalt der Rohstoffe von 104580 (103540 + 1035 Cal) eingesetzt worden (siehe Seite 351 und 352), um auch den geringen Mälzungsverlust mit zu berücksichtigen. Der Bedarf an Hefe beträgt nach Foth pro 100 kg Kartoffeln durchschnittlich 100 g mit 25 % = 25 g Trockensubstanz.

I. Verluste an Rohnährstoffen.

Die folgende Tabelle enthält die Zusammensetzung der Rohstoffe für die Schlempebereitung und der aus denselben direkt erhaltenen Schlempe (siehe die Anmerkung 1 auf Seite 342).

An Rohnährstoffen sind enthalten in	Trockensubstanz kg	Asche kg	Organ. Substanz kg	Rohprotein kg	Rohfett kg	Rohfaser kg	N-freie Extraktstoffe kg	Cal
100 kg Kartoffeln inkl. Malz und Hefe . . .	25	1,04	23,94	1,96	0,06	0,42	21,50	103540
Schlempe aus 100 kg dieses Rohmaterials:								
1. bei 80 % Vergärung der Kohlenhydrate:	7,88	1,01	6,87	1,96	0,05	0,56	4,30	33674
2. bei 90 % Vergärung	5,73	1,01	4,72	1,96	0,05	0,56	2,15	24854

Bei der Vergärung von 80 % der Kohlenhydrate sind nach der vorstehenden Tabelle 17,2 kg, nach Vergärung von 90 % 19,35 kg der N-freien Extraktstoffe der alkoholischen Gärung anheimgefallen. Wenn wir die vergorenen Kohlenhydrate auf Stärke berechnen, so müsste die theoretische Alkoholausbeute betragen:

1 Gr.-Mol $C_6H_{10}O_5$ mit 684,9 Calorien liefert

2 Gr.-Mol C_2H_5OH mit 651,4 Calorien = 95,1 % des Energiegehaltes der Stärke. Der Gärverlust würde also 4,9 % betragen.

Hieraus würde sich berechnen:

1. bei der Vergärung von 17,2 kg Stärke: 9,77 kg Alkohol mit 69200 Calorien,
2. bei der Vergärung von 19,35 kg Stärke: 10,99 kg Alkohol mit 77810 Calorien.

Der Energiegehalt der zugehörigen Schlempe (direkt bestimmt) betrug:

ad 1. 7,88 kg Trockensubstanz mit 33674 Calorien,

ad 2. 5,73 „ „ „ 24854 „ .

In Alkohol und Schlempe zusammen betrüge der Energiegehalt:

ad 1. 102874 Calorien,

ad 2. 102684 „ .

Da das Ausgangsmaterial für die Schlempe eine Verbrennungswärme von 103540 Calorien besaß, wären hiernach

ad 1. bei der Vergärung von 80 % der Kohlenhydrate 0,6 %,

ad 2. „ „ „ „ 90 % „ „ 0,8 %,

der Energie in Verlust geraten, bzw. über 99 % wiedererhalten.

Diese Ausbeute wäre zu hoch; da nämlich bei der alkoholischen Gärung bereits 4,9 % der Energie der vergorenen Stärke verloren gehen, würde sich als Verlust für die Gesamtmenge des Ausgangsmaterials ad 1. 3,4 % und ad 2. 3,6 % berechnen.

Der berechnete Verlust von nur 0.6 % bzw. 0,8 % der Energie des Ausgangsmaterials für die Schlempebereitung kommt dadurch zustande, daß für die vergorenen Kohlenhydrate die Zusammensetzung der Stärke angenommen worden ist. Nun sind zwar die Kohlenhydrate der Kartoffeln in der Hauptsache, aber keineswegs ausschließlich, Stärke. Beispielsweise sind in 100 kg Trockensubstanz der Kartoffeln zirka 5 % Dextrose mit nur 3,76 Calorien pro 1 g enthalten. Geht man von den theoretischen Verlusten von 3,4 % bzw. 3,6 % der Energie der Muttersubstanzen für die alkoholische Gärung aus, und bringt man ferner die direkt bestimmte Verbrennungswärme für die Schlempe in Abzug, so würden:

ad 1. von 17,2 kg Kohlenhydraten 9,39 kg Alkohol mit 66441 Cal

ad 2. „ 19,36 „ „ 10,57 „ „ „ 74835 „

restieren. 1 g Kohlenhydrat der Kartoffeln würde hiernach im Durchschnitt eine Verbrennungswärme von 4,06 kg liefern.

Der Verlust an Rohnährstoffen beträgt also:

Im Ausgangsmaterial . . . . 103540 Calorien.

In den Erzeugnissen:

1. 80 % Vergärung der Kohlenhydrate:

9,39 kg Alkohol . . 66441 Cal

7,88 kg[1]) Schlempe . 33674 „

Sa. 100115 Cal = 3,4 % Verlust.

2. 90 % Vergärung der Kohlenhydrate:

10,57 kg Alkohol . . 74835 Cal

5,73 kg[1]) Schlempe . 24854 „

Sa. 99689 Cal = 3,6 % Verlust.

[1]) Trockensubstanz.

II. Veränderungen im Gehalt an verdaulichen Nährstoffen durch die Schlempebereitung.

Nach Versuchen an Wiederkäuern.

100 kg Ausgangsmaterial für die Schlempebereitung enthalten an verdaulichen Nährstoffen[1]):

Organische Substanz kg	Rohprotein kg	N-freie Stoffe kg	Calorien
20,4	1,0	19,4	91 100

Nach der Vergärung von 80 % der Kohlenhydrate enthält die vergorene Maische an verdaulichen Nährstoffen:

	Organische Substanz kg	Rohprotein kg	N-freie organ. Substanz kg	Calorien
In der Schlempe	5,1	1,3	3,8	24 900
Im Alkohol . .	9,39	—	9,39	66 441
Sa.	—	1,3	—	91 341

Da das Ausgangsmaterial 91 100 Calorien an verdaulichen Nährstoffen enthielt, so sind letztere durch die alkoholische Gärung um 0,3 % erhöht worden. Auch enthält die Schlempe infolge höherer Verdaulichkeit um 30 % mehr an verdaulichem Rohprotein als ihr Rohmaterial.

Nach der Vergärung von 90 % der Kohlenhydrate enthalten die Produkte an verdaulichen Nährstoffen:

	Organische Substanz kg	Rohprotein kg	N-freie organ. Substanz kg	Calorien
Die Schlempe .	3,49	1,3	2,1	18 400
Der Alkohol . .	10,57	—	10,57	74 835
Sa.	—	1,3	—	93 235

In diesem Falle ist die Quantität der verdaulichen Nährstoffe im Vergleich zum Ausgangsmaterial sogar um 2,3 % erhöht worden.

Die Tatsache, daß die vergorene Maische einen etwas höheren Gehalt an verdaulichen Nährstoffen besitzt als ihr Aus-

[1]) Den Gehalt an Rohnährstoffen siehe Seite 345, die Verdauungswerte auf S. 343.

gangsmaterial, ist nicht überraschend, da einerseits der Energieverlust durch die alkoholische Gärung sehr gering ist, andererseits die organische Substanz der Kartoffeln vom Wiederkäuer nur zu ca. 85% verdaut wird, während der Alkohol, der rund $^3/_4$ der Energie des Ausgangsmaterials repräsentiert, dagegen vollständig resorbiert wird.

III. Veränderungen im Gehalt an ausnutzbaren Nährstoffen durch die Schlempebereitung.

Noch höhere Werte für den Nährstoffgehalt der vergorenen Maische im Vergleich zu ihrem Ausgangsmaterial findet man, wenn man mit nutzbaren Calorien rechnet.

A. Nach Versuchen an Wiederkäuern.

Der physiologische Nutzwert der Kartoffeln beträgt ca. 75%
" " " " Schlempe " ca. 62,7%
ihres Energiegehaltes. Als physiologischer Nutzwert des Alkohols können 95% seines Brennwertes[1]) angenommen werden.

Somit ergibt sich:

1. Der physiologische Nutzeffekt von 100 kg Kartoffeln + Malz + Hefe mit 25 kg Trockensubstanz . 77600 nutzbare Cal
2. Für die vergorene Maische:
   a) bei 80%iger Vergärung
      in 7,88 kg Schlempetrockensubstanz 21100 nutzbare Cal
      in 9,39 kg Alkohol . . . . 63100 " "
      Sa. 84200 nutzbare Cal
   b) bei 90%iger Vergärung
      in 5,73 kg Schlempetrockensubstanz 15580 nutzbare Cal
      in 10,57 kg Alkohol . . . . 71100 " "
      Sa. 86680 nutzbare Cal

Der Gehalt der vergorenen Maische an nutzbaren Nährstoffen (Calorien) wird hiernach im Vergleich zu ihrem Ausgangsmaterial bei der Vergärung von 80% der Kohlenhydrate um 8,5%, bei der Vergärung von 90% der Kohlenhydrate um 11,7% vermehrt.

---

[1]) An Wiederkäuern liegen meines Wissens direkte Untersuchungen über den physiologischen Nutzeffekt des Alkohols nicht vor. 95% seines Brennwertes an nutzbaren Calorien dürften hier nicht zu hoch gegriffen sein.

B. Nach Versuchen an Schweinen.

Zu wesentlich anderen Resultaten gelangt man, wenn der Gehalt des Ausgangsmaterials für die Schlempebereitung und der vergorenen Maische an verdaulichen und nutzbaren Nährstoffen für Omnivoren berechnet wird, da z. B. das Schwein ein höheres Ausnutzungsvermögen für die Kartoffelnährstoffe besitzt als der Wiederkäuer. Mit der Kartoffelschlempe liegen allerdings an Schweinen keine Ausnutzungsversuche vor, es sind daher die an Wiederkäuern gefundenen Daten benutzt worden; nur für die brennbaren Gase wurden auf 100 g verdaute N-freie Extraktstoffe und Rohfaser 12,5 Calorien gegenüber 57,3 Calorien beim Wiederkäuer eingesetzt (siehe oben). Der physiologische Nutzwert der Schlempe wurde hiernach zu 67 % berechnet, der des Alkohols zu 98 % angenommen.

Für die Nährstoffe der Kartoffeln sind an Schweinen im Durchschnitt folgende Verdauungswerte bestimmt worden:

Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Rohfaser %	N-freie Extraktstoffe %
94	76	—	55	98

Der physiologische Nutzeffekt der Kartoffelnährstoffe beträgt nach Untersuchungen von Völtz und Muhr beim Schwein 90 % ihres Energiegehaltes.

Hieraus ergibt sieh folgendes:

I. Die Veränderung im Gehalt an verdaulichen Nährstoffen durch die Schlempebereitung.

Nach Versuchen am Schwein.

Das Ausgangsmaterial (Kartoffeln, Malz, Hefe) für die Schlempebereitung[1]) enthält an verdaulichen Nährstoffen:

Organische Substanz kg	Rohprotein kg	Rohfett kg	Rohfaser kg	N-freie Extraktstoffe kg	Calorien
22,5	1,49	—	0,23	21,1	97 400

[1]) Siehe die Tabelle auf Seite 345.

Nach der Vergärung von 80 % der Kohlenhydrate enthält die vergorene Maische an verdaulichen Nährstoffen:

	Organische Substanz kg	Rohprotein kg	N-freie organ. Substanz kg	Calorien
In der Schlempe	5,1	1,3	3,8	24 900
Im Alkohol . .	9,39	—	9,39	66 441
Sa.	—	—	—	91 341

Da das Ausgangsmaterial 97 400 Calorien an verdaulichen Nährstoffen enthielt, so beträgt der Verlust an denselben **6,2 %**.

Bei der Vergärung von 90 % der Kohlenhydrate wäre der Gehalt an verdaulichen Nährstoffen:

	Organische Substanz kg	Rohprotein kg	N-freie organ. Substanz kg	Calorien
In der Schlempe	3,5	1,3	2,1	18 400
Im Alkohol . .	10,57	—	10,57	74 835
Sa.	—	—	—	93 235

In diesem Fall würde der Verlust an verdaulichen Nährstoffen durch die Schlempebereitung **4,3 %** betragen.

II. Die Veränderung im Gehalt an ausnutzbaren Nährstoffen durch die Schlempebereitung.

Nach Versuchen am Schwein.

Das Rohmaterial enthielt 93 200 nutzbare Calorien (90 %). Die vergorene Maische enthielt:

bei 80 %iger Vergärung:

in 7,88 kg[1]) Schlempe .	22 550	nutzbare Calorien
in 9,39 kg Alkohol . .	64 900	„ „
Sa.	87 450	nutzbare Calorien

bei 90 %iger Vergärung:

in 5,73 kg[1]) Schlempe .	16 650	nutzbare Calorien
in 10,57 kg Alkohol .	73 300	„ „
Sa.	89 950	nutzbare Calorien.

---

[1]) Trockensubstanz.

Die Verluste an nutzbaren Nährstoffen betragen hiernach bei der Kartoffelbrennerei nach Versuchen an Schweinen:

bei der Vergärung von 80 % der Kohlenhydrate 6,2 %
und „ „ „ „ 90 % „ „ 3,5 %.

Ergebnisse.

Nährstoffbilanzen für die Kartoffelbrennerei bei normaler Vergärung von 80 % der Kohlenhydrate.

a) Nach Versuchen an Wiederkäuern.

Ausgangsmaterial	Ausnutzbare Nährstoffe	Erzeugnisse	Ausnutzbare Nährstoffe
100 kg Kartoffeln, Malz und Hefe enthalten . .	77 100 Cal	9,39 kg Alkohol enthalten	63 100
		7,9 „ Schlempe „	21 100
			Sa. 84 200.

Hiernach enthält die vergorene Maische 8,5 % mehr an Nährstoffen als das Ausgangmaterial für die Schlempebereitung. Wenn man den geringen Nährstoffverlust beim Mälzen der Gerste noch besonders veranschlagt, so würden die Schlempe und der Alkohol zusammen 7,2 % an nutzbaren Nährstoffen mehr enthalten als die Rohstoffe (siehe auch S. 344). Der Gehalt der Schlempe an verdaulichem Rohprotein ist infolge höherer Verdaulichkeit etwa um ca. 1/8 höher als in den Rohstoffen für die Schlempebereitung.

b) Nach Versuchen am Schwein.

Ausgangsmaterial	Ausnutzbare Nährstoffe	Erzeugnisse	Ausnutzbare Nährstoffe
100 kg Kartoffeln, Malz und Hefe enthalten . .	93 200 Cal	9,39 kg Alkohol enthalten	65 700
		7,9 „ Schlempe „	22 800
			Sa. 88 500.

Die Umwandlung der Kartoffelnährstoffe in Alkohol und Schlempe führt also nach Versuchen an Wiederkäuern zu einem Plus von 8,5 bzw. 7,2 % (bei Berücksichtigung der Verluste beim Mälzen), nach Versuchen am Schwein zu einem Verlust von 6,3 % an ausnutzbaren Nährstoffen;

den Nährstoffverlust der Gerste beim Mälzen mit einbezogen betrüge dieser Verlust beim Schwein 7,1 % (siehe auch S. 344). Übrigens kommt der Alkohol ja in erster Linie als Genußmittel für den Menschen in Betracht. Beim Wiederkäuer wird der Alkohol nach Untersuchungen von Zuntz[1]) und seinen Mitarbeitern[2]) durch Einschränkung der Gärungsverluste im Verdauungstraktus um 18 % höher ausgenutzt als isodyname Mengen Stärke. Man wird daher Zuntz[3]) durchaus beipflichten können, wenn er in Zeiten schlechter Verwertbarkeit für den Alkohol die Verfütterung alkoholhaltiger Maische, und zwar nur an Masttiere, empfiehlt. Pro Tag und 1000 kg Lebendgewicht sollten die Gaben 1,5 bis 2 kg Alkohol nicht übersteigen.

Eine besondere Bedeutung kommt den Brennereien schließlich dadurch zu, daß nur der Alkohol aus der Wirtschaft ausgeführt wird, der in letzter Linie der Atmosphäre entstammt, während alle in den Rohstoffen enthaltenen Bestandteile des Bodens in die Schlempe übergehen und somit wieder zur Verwertung im Landwirtschaftsbetrieb gelangen.

---

[1]) N. Zuntz (Ref.), R. v. d. Heide, Klein, unter Mithilfe von Markoff, Fürst v. Dschandieri und Diakow, Zum Studium der Respiration und des Stoffwechsels der Wiederkäuer. Landwirtschaftl. Versuchsstationen 79/80, 781, 1913.

[2]) M. Diakow, Beitrag zur Kenntnis der Abhängigkeit des Nähreffektes beim Wiederkäuer von der Mischung der Futterstoffe. Landwirtschaftl. Versuchsstationen 83, 285, 1913.

[3]) N. Zuntz, Die Gärungen im Darmkanal der Wiederkäuer und ihre zweckmäßige Beeinflussung. Vortrag auf der Generalversammlung des Vereins der Spiritusfabrikanten in Deutschland am 22. II. 1913. Jahrb. des Vereins 1913, S. 361.

Chemische Veränderungen der Galle bei Leberintoxikationen und ihre Wichtigkeit in der Pathogenese der Gallensteinkrankheit.

Von

Luigi D'Amato.

(Aus der I. Medizinischen Klinik der Kgl. Universität in Neapel.)

(Eingegangen am 22. Februar 1915.)

Man kann sagen, daß das Studium der chemischen Veränderungen der Galle im pathologischen Zustand, wenige und unvollständige Beiträge ausgenommen, noch im Anfang ist. Und doch ist es nicht schwer, die große Wichtigkeit zu ersehen, die dieses Studium namentlich für die Pathologie der Leber und der Verdauungsorgane hat.

Verschiedene deutsche und französische Autoren, wie Pouchet, Thénard, Létienne, Tissier, Leemann, Frerichs und andere haben manchmal in der Leichengalle gerinnbares Albumin vorgefunden; Brauer konnte sein Erscheinen in der Galle derjenigen Hunde provozieren, die einer Alkoholbehandlung unterworfen waren.

Geza Kiràlyfi aus der Klinik von v. Koranyi hat die Frage am lebenden Menschen studieren wollen und dachte, sich die Galle mittels der Boldyreffschen Methode zu verschaffen. Er wandte seine Forschungen besonders auf die Diagnose der Gallenblasenentzündung an, weil er dachte, daß sich das Albumin gar nicht in der normalen Galle befindet, wohl aber in den entzündlichen Prozessen der Gallenwege erscheinen muß. Die durch Kiràlyfi erhaltenen Resultate waren entscheidend: in allen Fällen von Gallenblasenentzündung enthielt die Galle Albumin, das sich mittels der Schwefelsalicylsäurereaktion ermitteln ließ, während man in normalen Zuständen keins vorfand.

Das ist alles, was über das Argument bekannt war; d. h. wenige und unvollständige Kenntnisse, die nicht einmal streng wissenschaftlich waren.

Es war der Mühe wert, eine so interessante Frage gründlich und mit vollkommeneren Methoden zu studieren.

Da Boldyreffs Methode es ermöglicht, die Galle vom lebenden Menschen zu erhalten, wollte ich sehen, ob sie wirklich für die klinische Praxis und zu genaueren Forschungen gebraucht werden konnte.

Ohne hier die Einzelheiten meiner Forschungen anzugeben, von denen ich in einer anderen Publikation sprechen werde, will ich nur sagen, daß die obenerwähnte Methode gar nicht dem Zweck entsprach, den ich erreichen wollte, und deshalb verließ ich sie vollkommen.

Das Problem mußte direkt an den Tieren studiert werden.

Es ist bekannt, daß man in der Galle von gesunden Tieren eine gewisse Quantität Eiweißstoffe findet. Es handelte sich jetzt darum, die Quantität dieser Eiweißstoffe in normalen und in pathologischen Zuständen zu bestimmen, und dazu bediente ich mich der von Hammarsten modifizierten Hoppe-Seylerschen Methode.

In normalen Zuständen findet man in der Galle des Hundes nach Hoppe-Seyler von 2,45 bis 4,5 ‰ Schleimstoffe. Daniel Brunet und Rolland haben in der menschlichen Galle (in 49 Untersuchungen) im Durchschnitt von 1,15 g bis 2,25 g ‰ Nucleoproteid gefunden. Von Zeinek hat in der menschlichen Blasengalle 2,08 ‰ Schleimstoffe gefunden. Hoppe-Seyler fand große Verschiedenheiten in der frisch abgesonderten Galle: beim Hund schwankte die Quantität Nucleoproteid zwischen 0,53 g und 1,70 g ‰ Schleimstoff.

Ich wollte erst sehen, wieviel Nucleoproteid in der Galle von normalen Hunden vorhanden war, die in einer bestimmten Periode der Verdauung, d. h. 4 bis 5 Stunden nach einer Mahlzeit, in der die Kohlenhydrate vorherrschend waren (Brot, Teig), entnommen wurde. Die Hunde wurden in dieser Periode getötet, die Blasengalle wurde schnell mittels Aspiration der Blase aufgenommen und nach Zentrifugation wurde der klare Teil untersucht. Man wendete die Aspiration und nicht den

Schnitt der Blase an, um zu verhüten, daß fremde Eiweißstoffe sich mit der Galle hätten vermischen können.

Die Untersuchungen wurden bei drei Hunden gemacht und man fand resp. folgende Quantitäten Nucleoproteid: 1 g $^0/_{00}$, 0,7 g $^0/_{00}$, 1,47 g $^0/_{00}$, also im Durchschnitt 1,05 $^0/_{00}$.

In dieser ersten Serie von Untersuchungen habe ich nicht die Galle aus einer vorher gemachten Gallenfistel entnehmen wollen, weil es bekannt ist, daß die Entziehung der Galle aus den Gedärmen die chemische Zusammensetzung derselben wesentlich ändert, und ich wollte mich soviel wie möglich den Zuständen nähern, die man in der menschlichen Pathologie trifft.

Ich stellte nun die Frage: Sondert eine einer chronischen Intoxikation unterworfene Leber normale Galle ab?

In einer ersten Reihe von Forschungen, in denen die Galle direkt, wie oben angegeben, von der Gallenblase entnommen wurde, konnte ich wegen der Kargheit der Gallenmenge, die man auf diese Weise erhalten konnte, nur das Nucleoproteid bestimmen.

Die Hunde wurden der Wirkung verschiedener Lebergifte unterworfen: einer Mischung von Äthylalkohol und Amylalkohol, Essigsäure, Buttersäure und einer Kultur von B. coli.

Es folgen die gemachten Experimente in ihren Einzelheiten:

I. Ein Hund bekam 23 Tage lang eine Mischung von 50 $^0/_0$ Äthylalkohol und von Amylalkohol (von 10 bis 20 ccm des ersten und von 1 bis 4 ccm des zweiten).

Er wurde getötet, und man fand in der Blase 2 ccm Galle, in der 2 $^0/_0$ Nucleoproteid waren.

II. Ein anderer Hund wurde 18 Tage lang einer Behandlung mit in Wasser verdünnter Essigsäure (von 10 bis 20 $^0/_0$) unterworfen.

Er bekam täglich 1 bis 4 ccm. Im ganzen vertrug das Tier die Essigsäure sehr schlecht, denn es war sehr matt. Man tötete es und fand 8 $^0/_{00}$ Nucleoproteid.

III. Einem anderen Hunde wurden täglich 50 bis 120 Tropfen in Wasser aufgelöste Buttersäure von Merck eingegeben. Nach 12 Tagen wurde er getötet und man fand in der Galle 11,66 $^0/_{00}$ Nucleoproteid.

IV. Einem vierten Hunde wurden hypodermische Einspritzungen von Bouillon-Kulturen von B. coli (5 bis 10 ccm jedesmal) gemacht. Er wurde nach 9 Tagen getötet. Die Galle enthielt 2,75 $^0/_{00}$ Nucleoproteid.

Aus diesen Ergebnissen kann man sehen, daß alle angewendeten Giftstoffe eine mehr oder weniger bedeutende Zunahme des Nucleoproteids hervorgerufen haben. Von einer Quantität Nucleoproteid, die in normalem Zustande um 1 °/₀₀ schwankte, sind wir bis 11,66 °/₀₀ bei dem mit Buttersäure behandelten Hunde gekommen.

Die geringste Wirkung haben die Buttersäure und die Essigsäure ausgeübt.

Um weitere Forschungen anzustellen, zu denen ich mehr Galle brauchte, mußte ich obiges Verfahren verlassen und die klassische Methode der Gallenfistel gebrauchen.

Starke Hunde wurden von meinem Kollegen Pasanise aus dem Institut der operativen Chirurgie an der Gallenfistel operiert. Ich spreche ihm an dieser Stelle meinen Dank aus für die große Geschicklichkeit, mit der er die Tiere operierte.

Die so operierten Hunde wurden erst einige Monate nach der Operation zu den Untersuchungen verwendet, als die Entzündungen der Blase verschwunden oder sehr vermindert waren.

Um die Galle aufzufangen, wurden die Hunde in einen besonderen Apparat getellt und darin in einer möglichst bequemen Lage gehalten.

Es gelang mir nicht, sie volle 24 Stunden dort zu behalten, denn nach einigen Stunden gerieten die Tiere in ein Stadium wütender Aufgeregtheit, und man mußte sie in Freiheit setzen. Deshalb dachte ich die Galle ca. 5 Stunden lang nach der Hauptmahlzeit und 4 Stunden lang morgens, wenn sie nüchtern waren, aufzufangen; dann mischte ich die beiden Gallenproben und verwendete sie zu Analysen. Beim nüchternen Hunde gewann man sehr wenig Galle (kaum wenige Kubikzentimeter), viel mehr erhielt man nach den Mahlzeiten.

In diesen Experimenten wurden nicht nur das Nucleoproteid untersucht, sondern auch die Gallensalze und das freie sowohl als das chemisch gebundene Cholesterin.

Zur Untersuchung des Nucleoproteids wurde die von Hammarsten modifizierte Hoppe-Seylersche Methode angewendet, für die Gallensalze die von Exner und Heyrowski gebrauchte Methode und für das Cholesterin diejenige von Windaus.

Die Hunde wurden bei einer beständigen Nahrung von Brot und Teig gehalten.

Um die Leber zu vergiften, bediente man sich derselben Stoffe, die in den vorhergehenden Experimenten gebraucht worden waren.

Die Vergiftung des ersten Hundes geschah im Anfang mit Buttersäure: 30 Tropfen täglich, 7 Tage lang. Nachher gebrauchte ich eine Mischung von Äthylalkohol und Amylalkohol, die ich so bereitete: Ich nahm $60^0/_0$igen Äthylalkohol und fügte $20^0/_0$ Amylalkohol dazu. Von dieser Mischung flößte ich ihm 20 ccm täglich ein.

Der zweite Hund ist mit hypodermischen Einspritzungen von 24 stündigen Bouillonkulturen von B. coli behandelt worden, und man gab ihm jede 2 Tage 4 ccm.

Die Resultate ersieht man aus den folgenden Tabellen.

Tabelle I.

Daten	Menge der Galle	Nucleoproteid		Gallensäuresalze		Freies Cholesterin		Gebundenes Cholesterin		Gesamtcholesterin		Bemerkungen
	ccm	Absol. Wert g	Proz. Wert $^0/_{00}$	Absol. Wert g	Proz. Wert $^0/_{00}$	Absol. Wert g	Proz. Wert $^0/_{00}$	Absol. Wert g	Proz. Wert $^0/_{00}$	Absol. Wert g	Proz. Wert $^0/_{00}$	
24. II.	30	0,048	1,60	0,357	11,90	0,0035	0,1166	0,0025	0,0833	0,006	0,1999	Vor d. Vergiftung vorherschend kohlenhydrat. Nahrung.
15. III.	35	0,049	1,40	0,455	13,00	0,005	0,1428	0,003	0,0857	0,008	0,2285	
Durchschn.		0,0485	1,50	0,406	12,45	0,00425	0,1297	0,00275	0,0840	0,007	0,2137	
v. 15. bis 27. IV.	30	0,040	1,40	0,348	11,60	0,004	0,133	0,0025	0,083	0,0065	0,216	Behandlung mit Buttersäure.
7. V.	25	0,075	3,00	0,225	9,00	0,003	0,12	0,002	0,081	0,005	0,201	Behandlung mit einer Mischung von Äthylalkohol und Amylalkohol
15. V.	40	0,160	4,00	0,320	8,00	0,004	0,10	0,003	0,075	0,007	0,175	
24. V.	35	0,168	4,80	0,262	7,50	0,003	0,09	0,0025	0,071	0,0052	0,161	
30. V.	40	0,20	5,00	0,28	7,00	0,0035	0,08	0,0025	0,062	0,006	0,142	

Tabelle II.

Daten	Menge der Galle	Nucleoproteid		Gallensäuresalze		Freies Cholesterin		Gebundenes Cholesterin		Gesamtcholesterin		Bemerkungen
	ccm	Absol. Wert g	Proz. Wert $^0/_{00}$	Absol. Wert g	Proz. Wert $^0/_{00}$	Absol. Wert g	Proz. Wert $^0/_{00}$	Absol. Wert g	Proz. Wert $^0/_{00}$	Absol. Wert g	Proz. Wert $^0/_{00}$	
4. V.	25	0,041	1,64	0,403	16,12	0,003	0,12	0,002	0,08	0,005	0,20	Vor d. Vergiftung vorherrschend kohlenhydrat. Nahrung.
10. V.	32	0,044	1,37	0,394	12,31	0,004	0,125	0,002	0,0625	0,006	0,1775	
Durchschn.		0,0425	1,50	0,398	14,21	0,0035	0,1225	0,002	0,0713	0,0055	0,1938	
v. 2. bis 7. VI.	30	0,054	1,80	0,348	11,60	0,003	0,10	0,0025	0,083	0,0055	0,183	Hypodermische Einspritzungen v. Bouillonkulturen v. B. coli.
15. VI.	25	0,057	2,30	0,225	10,00	0,002	0,08	0,002	0,08	0,004	0,16	
22. VI.	40	0,16	4,00	0,32	8,00	0,003	0,075	0,0025	0,0625	0,0055	0,1375	
Durchschn.		0,090	2,70	0,297	9,86	0,0026	0,085	0,0023	0,075	0,0049	0,160	

Aus diesen Tabellen sieht man deutlich, daß man unter der Wirkung einiger Substanzen, die eine vergiftende Wirkung auf die Leber ausüben, wesentliche Störungen in der Abstoßung des Nucleoproteids, der Gallensäuresalze und des Cholesterins bekommt.

Das Nucleoproteid hat merklich zugenommen: von einem Durchschnitt von 1,5 g $^0/_{00}$ sind wir bis zu 5 $^0/_{00}$ gekommen!

Solche Resultate bestätigen völlig die in der ersten Serie erhaltenen.

Die Gallensäuresalze dagegen haben sich sehr vermindert; von dem normalen Durchschnitt von 12 g $^0/_{00}$ sind sie fortschreitend bis zu 7 $^0/_{00}$ herabgesunken; sie haben sich also fast um die Hälfte verringert. Es handelt sich nicht um einen scheinbaren Wert, denn diese Proportion erhält sich mehr oder weniger, auch wenn man den absoluten Wert der abgestoßenen Gallensäuresalze betrachtet.

Weniger klar ist das Verhalten des Cholesterins. Wenn man sich an den Prozentsatz halten wollte, müßte man sagen, daß auch das Cholesterin unmerklich vermindert ist (namentlich das freie Cholesterin). Von 0,13 g $^0/_0$ kommt man allmählich auf 0,09 g $^0/_{00}$. Wenn man aber den absoluten Wert berücksichtigt, erscheint diese Verringerung weniger merklich, aber immerhin meßbar, namentlich beim ersten Hunde.

In der Tat sind wir von einer durchschnittlichen Ausscheidung von 0,0042 g freiem Cholesterin bis zu 0,0035 g gekommen, und auch die Abscheidung des gebundenen Cholesterins ist von 0,0027 g bis 0,0022 g gekommen, so daß das gesamte Cholesterin, das im Durchschnitt 0,007 g war, auf 0,0059 g gekommen ist.

Weniger bedeutend, aber immer noch meßbar erschien die Verringerung am zweiten durch die Kultur von B. coli vergifteten Hunde; aber die Verringerung bezog sich hauptsächlich auf das freie Cholesterin; man kam von einem Durchschnitt von 0,0035 g freien Cholesterins auf 0,0026 g.

Wir können also annehmen, daß einige Vergiftungen der Leber die chemische Zusammensetzung der Galle stören, so daß sie den Inhalt des Nucleoproteids wesentlich erhöhen, jedoch die Gallensäuresalze bedeutend und das Cholesterin (namentlich das freie) merklich verringern lassen.

Wie soll man diese Resultate erklären?

Warum lassen die Vergiftungen der Leber das Nucleoproteid ansteigen? Ich habe zu diesem Zwecke keine besonderen Forschungen angestellt, aber man kann vermuten, daß diese Zunahme entweder von einer Reizung der Gallenwege oder vom Absterben der Leberzellen durch die Wirkung der eingegebenen Giftstoffe herrührt.

Nach den Untersuchungen von Paykull käme das Nucleoproteid von der Abschieferung der kanalförmigen Epithelien, und da wäre die erste Idee, die aufkommt, um die Zunahme des Nucleoproteids zu erklären, daß die Abschieferung unter der Wirkung der eingegebenen Giftstoffe zugenommen habe. Aber wenn man bedenkt, daß die biliären Epithelien reich an Cholesterin sind, und daß die Naunynsche Lehre nicht richtig ist, die angibt, daß das ganze Gallencholesterin von ihnen herkommt, so ist jedoch sicher, daß die Epithelien eine Quelle des Cholesterins sein können, und so müßte man auch eine Zunahme dieser Substanz in der Galle erwarten, wenn wirklich eine erhöhte Abschieferung dieser Epithelien vorhanden wäre. Meine Untersuchungen beweisen aber, daß das Cholesterin gar nicht zugenommen, vielmehr etwas abgenommen hat: es ist also unwahrscheinlich, daß eine größere Abschieferung der kanalförmigen Epithelien vorhanden sei.

Andererseits wird von einigen Forschern wie Strauß und Blocq, Afanassiew, Rovighi, Boix, D'Amato und vielen anderen angenommen, daß alle von mir angewendeten Giftstoffe mehr oder weniger ausgebreitete Nekrose der Leberzellen verursachen.

Es wird viel Nucleoproteid der Zellengewebe der Leber in Freiheit gesetzt, und es ist möglich, daß es durch die Gallenwege abgestoßen wird.

Viel leichter ist die Erklärung der anderen wichtigen Tatsache, d. h. die Verminderung der Gallensäuresalze. Es ist bekannt, daß diese in physiologischen Zuständen nicht im Blut existieren. Sie werden ausschließlich von den Leberzellen gebildet, und es ist leicht zu verstehen, wie die vergifteten und teilweise abgestorbenen Leberzellen weniger funktionieren und so eine geringere Menge Gallensalze erzeugen.

Im Gegenteil ist es nicht leicht, sich die wenn auch leichte

Verminderung des freien und gebundenen Cholesterins zu erklären. Hier stoßen wir uns an die noch so streitige Frage des Bildungsortes des Cholesterins und seiner Abstoßungswege.

Wenn man sich vergegenwärtigt, daß in der vergifteten Leber die Zerstörung der Zellen vorkommt und man so Zersetzungsprodukte der Zellen erhält, die nach Klemperer das Cholesterin von dem Zellengewebe absondern, so muß man eine Zunahme des Gallencholesterins und nicht eine Verminderung desselben erwarten.

Aber diese Verminderung könnte man ganz gut nach den Untersuchungen von Reicher und anderen erklären, die annehmen, daß die Leber ein cholesterinerzeugendes Organ sei, das auf Kosten des Fettes und der Eiweißstoffe gebildet würde.

Die von mir beobachteten Tatsachen stimmen nicht gut mit der in den letzten Jahren von vielen und vor allem von Grigaut verteidigten Hypothese überein, daß, wenn man die chemischen Affinitäten zwischen Cholesterin und Cholalsäure für die Formel, für die Reaktion und für die Zerlegungsprodukte annimmt, es wahrscheinlich ist, daß das in unseren Organismus eingeführte Cholesterin sich in der Leber teilweise in Cholalsäuresalze und dann in Gallensäuresalze verwandelt.

Wenn die Sache so einfach wäre, hätten wir in der Galle der vergifteten Hunde eine geringere Tätigkeit der Leber in der Umwandlung des Cholesterins in Cholalsäure bemerken müssen; d. h. eine Zunahme des Cholesterins und eine Abnahme der Gallensäuresalze; statt dessen haben wir gesehen, wie das Cholesterin sogar abgenommen hat.

Es ist also nicht leicht, beim jetzigen Zustand unserer Kenntnisse über die Biochemie des Cholesterins eine sichere Erklärung der von mir beobachteten Tatsache zu geben. Dessenungeachtet bleibt das Faktum, und es scheint mir nicht ohne Wichtigkeit zu sein.

Niemandem kann die Wichtigkeit entgehen, die diese Untersuchungen für die Pathogenese der Gallensteinkrankheit haben.

In dem Bericht, den ich 1913 über dieses Argument in der Gesellschaft für innere Medizin erstattet habe, drückte ich die Meinung aus, daß die chronischen Intoxikationen der Leber als zur Gallensteinkrankheit prädisponierende ethiologische Momente anzusehen seien. Ich begründete diese Meinung mit den

ersten Resultaten meiner Nachfoschungen, die schon zeigten, daß die Vergiftungen der Leber das Nucleoproteid stark zunehmen lassen.

Die gegenwärtigen Untersuchungen verstärken noch die voriges Jahr ausgesprochene Meinung.

Die Zunahme des Nucleoproteids in der Galle ist als ein dem Niederschlage des Cholesterins günstiger Zustand anzusehen.

Die Studien von Porges und Neubauer, von Schade von Lichtwitz sowie die meinigen beweisen unwiderruflich die Wichtigkeit, welche die Eiweißstoffe für die Ausscheidung des Cholesterins haben. Es ist also klar, daß alle krankhaften Zustände, welche die Eiweißstoffe in der Galle zunehmen lassen, als der Bildung von Steinen günstig angesehen werden müssen.

Man füge zu diesem günstigen Zustand noch den andern nicht minder wichtigen, von mir bewiesenen, der Verminderung der Gallensalze hinzu. Alle Autoren betrachten die Gallensalze als die Hauptlösungsmittel des Cholesterins. Die Untersuchungen von Exner und Heyrowski und die meinigen beweisen, daß die am besten bekannten Ursachen der Gallensteinkrankheit, wie z. B. die Infektionen, vor allem dadurch wirken, daß sie eine starke Verminderung der Gallensalze hervorrufen; und die Untersuchungen von Exner und Heyrowski schreiben den Gallensäuresalzen noch mehr als den Seifen und den neutralen Fetten die Aufgabe zu, das Cholesterin in der Galle aufgelöst zu erhalten.

Es ist also klar, daß eine merkliche Abnahme der Gallensalze wie die von mir beobachtete (die fast bis 50% ansteigt), den Niederschlag des Cholesterins sehr begünstigen muß, wenn auch die anderen günstigen Bedingungen vorhanden sind.

Die Lebervergiftungen bereiten also in der Galle die günstigsten chemischen Zustände zur Ausscheidung des Cholesterins vor.

Das ist die wichtigste Folgerung, die man meinen Untersuchungen entnehmen kann; aber wie man leicht versteht, ist es nicht die einzige. Wenn man der hohen funktionellen Aufgabe gedenkt, die im Verdauungsprozeß den Gallensalzen zukommt, muß man an die tiefe Störung denken, die jedesmal in dieser Verdauung vorkommt, wenn die einer chronischen Intoxikation unterworfene Leber eine an Gallensalzen arme

Galle absondert. Es wäre der Mühe wert, die Untersuchungen in dieser Richtung fortzusetzen, aber für jetzt begnüge ich mich mit dem Schluß, daß das Eingeben einiger bekannter Lebergifte tiefe Veränderungen in der chemischen Beschaffenheit der Galle hervorbringt insofern, daß es das Nucleoproteid auf bemerkenswerte Weise zunehmen läßt (fünffach und noch mehr), während es die Gallensäuresalze merklich, das freie und das chemisch gebundene Cholesterin etwas weniger abnehmen läßt. Diese chemischen Veränderungen der Galle stellen günstige Zustände für die Ausscheidung des Cholesterins und daher für die Bildung der Gallensteine vor.

Literaturverzeichnis.

Brauer, Untersuchungen über die Leber. Zeitschr. f. physiol. Chem. **40**, 1903.

Daniel Brunet und Rolland, Contribution à l'étude de la bile vesc. del bovidés. Compt. rend. Soc. Biol. **1911**.

D'Amato, Über experimentell vom Magendarmkanal aus hervorgerufene Veränderungen der Leber und über die dabei gefundenen Veränderungen der übrigen Bauchorgane. Virchows Arch. **187**, 1907.

D'Amato, La calcolosi epatica (patogenesi). Lavori del XXIII Congr. ital. di Medicina interna. Roma 1913.

D'Amato, Su alcune condizioni che favoriscono la precipitazione della colesterina biliare. Riforma medica **1915**.

Exner und Heyrowski, Zur Pathogenese der Cholelith. Arch. f. klin. Chirurgie **1908**.

Geza Királyfi, Die bakteriologische und chemische Untersuchung der Galle in vivo; diagnostisches Verfahren in der Frühdiagnostik des Typhus abdom. Wiener klin. Wochenschr. **1912**.

Grigaut, Le cycle de la cholestérinémie. Paris 1913.

Klemperer, Deutsche med. Wochenschr. **1908**.

Lichtwitz, Experimentelle Untersuchungen über die Bildung von Niederschlägen in der Galle. Arch. f. klin. Med. **1907**.

Porges und Neubauer, Physikalisch-chemische Untersuchungen über das Lecithin und Cholesterin. Diese Zeitschr. **7**, 152, 1907.

Reicher, Atti del 28° Congr. tedesco di Medic. interna. del 1911. Rifer. in Münch. med. Wochenschr. **1911**.

Schade, Beiträge zur Konkrementbildung. Münch. med. Wochenschr. **1909**.

Zur Frage nach der fermentativen Tätigkeit des Blutes und der Organgewebe bei Pankreasexstirpation.

II. Mitteilung.

Über die Nuclease.

Von

W. Stawraki.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin, Petersburg.)

(Eingegangen am 6. Juli 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Um die Beziehungen des Pankreas zum Purinstoffwechsel aufzuklären, muß bei experimentellen Studien die nucleolytische Wirkung des Blutes und der Organgewebe berücksichtigt werden, da die Berechnung des Nucleinstoffwechsels aus den durch den Harn ausgeschiedenen Endprodukten den neueren Anschauungen nach nicht mehr genügend ist. Die Bestimmung der nucleolytischen Wirkung des Blutes und der Organgewebe an pankreaslosen Hunden müßte die Beziehungen des Pankreas zum Purinstoffwechsel aufklären. Von verschiedenen Forschern wurde der Versuch gemacht, die Störungen des Purinstoffwechsels in Zusammenhang mit der Tätigkeit innerer Organe zu stellen. Mares[1]) und Smetanka[2]) vertreten bis zur letzten Zeit die Ansicht über den Zusammenhang der Verdauungsdrüsen, hauptsächlich des Pankreas, mit der Bildung und Ausscheidung der Harnsäure. Mares konstatierte, daß die durch Pilocarpin angeregte Drüsentätigkeit tatsächlich mit Harnsäurevermehrung verbunden ist. Von Burian und Schur wurde

---

[1]) Mares, Arch. f. d. ges. Physiol. 134, 149.

[2]) Smetanka, Arch. f. d. ges. Physiol. 130, 149.

die äußerst wichtige Tatsache festgestellt, daß bei purinfreier Nahrung die Harnsäureausscheidung nicht aufhört, und daß diese Harnsäure endogener Herkunft ist. Mares stellt auch diese Harnsäureausscheidung in Zusammenhang mit den Verdauungsdrüsen, hauptsächlich mit dem Pankreas: „Der Zusammenhang der endogenen Harnsäurebildung mit den Verdauungsdrüsen tritt besonders beim Pankreas hervor." Von Polubojarinoff[1]) wurde der Versuch gemacht, die Beziehung des Pankreas zum Purinstoffwechsel aufzuklären. Er machte seine Beobachtungen an Hunden bei partieller Pankreasexstirpation, das heißt, es wurde von ihm absichtlich ein von der Darmwand isoliertes Pankreasstückchen hinterlassen, und konstatierte eine bedeutende Steigerung der Purinbasenausscheidung, die er durch Zerfall der Zellkernstoffe zu erklären versucht. Von Mendel und Lusk[2]) wurde bei Diabetikern nach purinreicher Nahrung im Gegenteil zu normalen Menschen eine bedeutende Steigerung und Beschleunigung der Harnsäureausscheidung konstatiert. Von bedeutendem Interesse sind die Beobachtungen von Bloch[3]) und Rosenberger[4]) über die Hemmung der Harnsäureausscheidung endogener Herkunft bei gesteigerter Purinausscheidung exogener Herkunft.

Diese Tatsachen, die herabgesetzte Ausscheidung der endogenen Harnsäure und die bedeutende Beschleunigung der Ausscheidung exogener Purine bei Erkrankungen des Pankreas resp. Störungen seiner innersekretorischen Funktionen deuten auf den Zusammenhang des Pankreas mit dem Purinstoffwechsel. Der Ausfall der Pankreastätigkeit resp. seine innersekretorischen Störungen können nicht ohne Einfluß auf die nucleolytische Wirkung der Zellen des Organismus bleiben.

Es wäre möglich, daß den Pankreaserkrankungen (Diabetes) eine Störung des Nucleinstoffwechsels der Zellen, resp. Störung ihrer fermentativen Tätigkeit zugrunde liegt und dadurch eine gesteigerte und beschleunigte Baumaterialausscheidung bedingt wird, oder es findet Störung des Ersatzvermögens und der synthetischen Tätigkeit der Zellen statt, die der Organismus

---

[1]) Polubojarinoff, Russki Wratsch 1910, Nr. 51.
[2]) Mendel und Lusk, Arch. f. klin. Med. 81.
[3]) Bloch, Arch. f. klin. Med. 83.
[4]) Rosenberger, Zeitschr. f. Biol. 48.

durch Hemmung des eigenen Nucleoproteidabbaus reguliert und dadurch eine herabgesetzte Ausscheidung endogener Harnsäure bedingt wird.

Da von verschiedenen Forschern bei Diabetes — bei Störung innersekretorischer Pankreastätigkeit — Anomalien im Nucleinstoffwechsel konstatiert worden sind, so muß die Bestimmung der nucleolytischen Wirkung der Organgewebe pankreasloser Hunde von bedeutendem Interesse sein, und deshalb untersuchte ich das Serum und die Organextrakte normaler und pankreasloser Hunde auf ihren Nucleasegehalt.

Levene, Jones und ihre Mitarbeiter haben gezeigt, daß die „Nuclease" als Sammelname für eine ganze Reihe spezifisch wirkender Fermente aufgefaßt werden muß, und daß die stufenweise Spaltung der Nucleinsäuren unter der Einwirkung verschiedener Fermente dieser Gruppe verläuft. Diese Spaltung geht durch verschiedene von Levene u. a. charakterisierte Zwischenprodukte.

Da Methoden zur Bestimmung der Wirkung einzelner Fermentgruppen fehlen, kann nur die gesamte nucleolytische Wirkung berechnet werden, doch sind die nach der optischen Methode (Pighini) für Serum und Organgewebe erhaltenen Werte nicht vergleichbar, da das Serum keine Nucleosidase, die zu den intracellularen Fermenten gehört, enthält.

Versuchsanordnung.

Ich bestimmte die nucleolytische Wirkung des Blutes und der Organgewebe bei gesunden und pankreaslosen Hunden nach der optischen Methode (Pighini[1]) und bediente mich des von Neuberg[2]) vorgeschlagenen hefenucleinsauren Natriums. Bestimmt wurde das Drehungsvermögen gleich nach Herstellung der Mischung und zum Schluß des Versuches. Da wir die bei pankreaslosen Hunden erhaltenen Werte mit normalen Hunden vergleichen und diese Werte nicht als absolut ansehen, so wurde die einmal ausgearbeitete Versuchsanordnung strengstens eingehalten. Beim Serumversuch wurden 20 ccm einer 2%igen Nucleinnatriumlösung mit 1 ccm Serum, bei Organextrakten

---

[1]) Pighini, Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 85.
[2]) Neuberg, diese Zeitschr. 80, 505.

Tabelle I.

Die Zahlen bedeuten die Differenz des Drehungsvermögens vor und nach dem 24-Stunden-Versuch bei 1 ccm Serum und 20 ccm 2%iger Nucleinnatriumlösung

	Nummer der Hunde	Tag der Operation	Tag der Entblutung nach der Operation	Tage der Untersuchung: Vor der Operation	3	4	6	7	8	9	11	12	14	15	17	19	20	23	27	32	36
Pankreaslose, gelbsüchtige Hunde	IX	14. V.	20. V.	0,75	0,70	—	0,72	—	—	—											
	X	11. V.	20. V.	0,84	—	0,70	—	—	—	0,85											
Pankreaslose Hunde	V	19. III.	27. III.	1,10	—	0,80	—	0,71	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	VI	18. V.	7. VI.	0,98	—	0,75	—	—	0,77	—	0,25	—	0,26	—	0,42	—	0,47	—	—	—	—
	VIII	22. V.	27. VI.	1,12	0,75	—	0,25	—	—	0,24	—	0,47	—	0,65	—	0,65	—	0,60	0,69	0,44	0,42

mit 5 ccm[1]) Extrakt in sterilen Kolben versetzt, die eine Hälfte der Mischung gleich in ein 100 mm langes Polarisationsrohr gegossen, das Drehungsvermögen bestimmt, die Lösung verworfen und der Kolben mit der zweiten Hälfte in einen Thermostaten bei 38° gestellt. Nach 24 Stunden wurde der Kolbeninhalt auf einer elektrischen Zentrifuge zentrifugiert, die klare Flüssigkeit in ein Polarisationsrohr gegossen und das Drehungsvermögen bei derselben Temperatur bestimmt. Ich benutzte einen Polarisationsapparat nach Landolt von der Firma Franz Schmidt und Haensch, Berlin, mit einer Nernstlampe als Lichtquelle und einer Kaliumbichromatlösung als Lichtfilter. Zu diesen Versuchen dienten die in meiner ersten Mitteilung[2]) beschriebenen, in 4 Gruppen eingeteilten Hunde:

1. Gruppe: Normale (gesunde) Hunde.

2. Gruppe: Pankreaslose Hunde (Kurzversuche).

3. Gruppe: Gelbsüchtige, pankreaslose Hunde (Kurzversuche).

---

[1]) Die Organextrakte (1 : 50 mit steril. Wasser) wurden an einem kühlen Ort im Laufe von 24 Stunden hergestellt und dann stark zentrifugiert. Siehe Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 381.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 381.

4. Gruppe: Pankreaslose Hunde (Dauerversuche — über 20 Tage nach Pankreasexstirpation).

Das Blut wurde immer 18 Stunden nach der letzten Nahrungsverabreichung entnommen, die Entblutung geschah immer erst 24 Stunden nach Fütterung. Das Serum wurde durch Gerinnung des Blutes und Absetzen erhalten.

Wie aus nebenstehender Tabelle zu ersehen ist, sind die individuellen Schwankungen der nucleolytischen Energie des Serums bei verschiedenen normalen Hunden, von denen ich 15 untersuchte, recht bedeutend; als Maximalwert fand ich die Zahl 1,19, als Minimal 0,75 (Durchschnitt 1,03).

Bei einem jeden Versuchstier wurde die nucleolytische Wirkung des Serums vor der Pankreasexstirpation bestimmt und die nach der Operation konstatierten Veränderungen mit diesen Werten verglichen (s. Tabelle I).

Aus Tabelle I geht hervor, daß in den ersten Tagen nach der Operation keine Veränderungen in der nucleolytischen Serumenergie stattfinden. Beim Hunde V wurde am 7. Tage eine geringe (1,00 bis 0,71), beim Hunde VIII am 6. Tage und bei VI am 11. Tage eine sehr bedeuteude Abnahme konstatiert. Nach einigen Tagen findet wieder eine Steigerung statt, die aber niemals die frühere Norm vor der Operation erreicht. Die Kurve veranschaulicht diese Veränderungen.

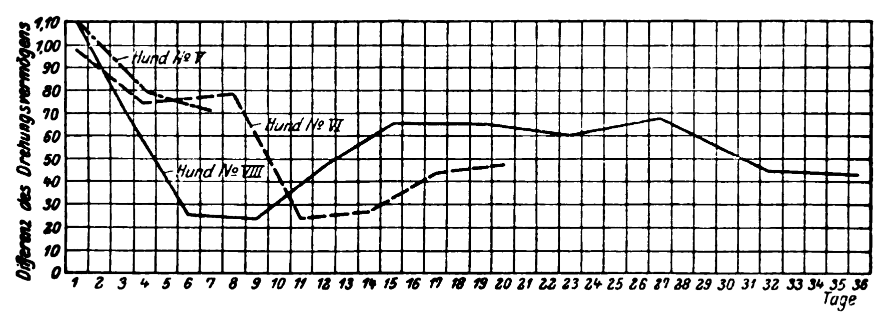


Fig. 1.

Die nucleolytische Wirkung der Gewebe verschiedener Organe ist in nachfolgender Tabelle dargestellt.

Aus dieser Tabelle geht deutlich hervor, daß bei totaler Pankreasexstirpation eine bedeutende Abnahme der nucleolytischen Energie fast aller Organe stattfindet. Am deutlichsten

Tabelle

	Nummer des Hundes	Tag der Entblutung nach der Operation	Gewicht in Gramm vor der Operation	Gewicht in Gramm am Tage der Entblutung	1 Nieren[1]			2 Milz			3 Leber			4 Herz			5 Lungen		
					[2])	Mittelwert der Gruppe	Abnahme in Prozent	[2])	Mittelwert der Gruppe	Abnahme in Prozent	[2])	Mittelwert der Gruppe	Abnahme in Prozent	[2])	Mittelwert der Gruppe	Abnahme in Prozent	[2])	Mittelwert der Gruppe	Abnahme in Prozent
Gesunde Hunde	I		22700		1,27			1,16			1,16			1,02			0,95		
	II		11750		1,25	1,27		1,33	1,22		1,32	1,15		1,27	1,15		1,13	1,08	
	III		16000		1,19			1,18			0,97			1,15			1,17		
Pankreaslose gelbsüchtige Hunde	IX	9.	22200	17200	0,66	0,81	**36,2**	0,98	1,04	**14,8**	0,90	0,78	**32,1**	0,54	0,47	**59,0**	0,47	0,60	**44,4**
	X	9.	16400	12400	0,97			1,11			0,67			0,38			0,72		
Pankreaslose Hunde, Kurzversuche	IV	6.	13400	9500	0,85	0,88	**30,7**	1,08	1,08	**10,4**	0,65	0,66	**42,6**	0,49	0,43	**62,6**	0,92	0,90	**16,6**
	V	9.	12400	9200	0,92			1,10			0,68			0,37			0,88		
Pankreaslose Hunde, Dauerversuche	VI	20.	16400	12000	0,62	0,76	**40,1**	0,78	0,84	**25,4**	0,27	0,55	**52,1**	0,46	0,46	**60,0**	0,49	0,63	
	VIII	37.	22000	11200	0,90			0,90			0,83			0,46			0,78		

ausgesprochen ist diese Abnahme bei Dauerversuchen und erreicht nicht selten 40 bis 60% des vor der Operation bestimmten Wertes. Von Bedeutung sind die Befunde über die Steigerung der nucleolytischen Wirkung des Gehirns und der Muskeln bei Kurzversuchen im Gegenteil zu Dauerversuchen, wo eine Abnahme im Gehirn von 45% und den Muskeln von 32,6% stattfindet. Nur in der Unterkieferdrüse (Gland. submax.) wurde bei Dauerversuchen eine regelmäßige Steigerung (42%) konstatiert.

In der Tabelle II sind die Organe nach ihrem Nucleasegehalt geordnet.

Mir ist natürlich der Gedanke, aus meinen Beobachtungen irgendwelche bestimmten Schlußfolgerungen für dieses oder jenes Organ zu machen, vollständig fern, da die individuellen Schwankungen sehr bedeutend sind, doch will ich betonen, daß bei Pankreasexstirpation eine allgemeine Abnahme der nucleolytischen Wirkung stattfindet.

[1]) Das Gewicht der Organe und ihre Trockensubstanz, sowie Berücksichtigung des Fettgehalts siehe Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 381.

[2]) Die Zahlen bedeuten die Differenz des Drehungsvermögens vor und nach dem 24-Stunden-Versuch bei 5 ccm Organextrakt (1 : 50) und 20 ccm 2%ige Nucleinnatriumlösung.

II.

6			7			8			9			10			11			12		
Hals Lymphdrüse			Nebenniere			Gehirn			Hoden (Testis)			Unterkiefer-Speicheldrüse			Schilddrüse			**Muskel**		
2)	**Mittelwert der Gruppe**	Abnahme in Prozent	2)	**Mittelwert der Gruppe**	Abnahme in Prozent	2)	**Mittelwert der Gruppe**	Abnahme in Prozent	2)	**Mittelwert der Gruppe**	Abnahme in Prozent	2)	**Mittelwert der Gruppe**	Abnahme in Prozent	2)	**Mittelwert der Gruppe**	Abnahme in Prozent	2)	**Mittelwert der Gruppe**	**Abnahme in Prozent**
0,80 1,03 —	**0,96**		0,76 1,13 0,95	0,94		1,04 0,88 0,90	0,94		0,92 — 0,86	0,89		0,65 0,90 0,82	0,78		0,68 — 0,52	0,60		0,50 0,40 0,49	**0,46**	
0,85 —	0,85	**11,4**	0,43 0,74	0,58	**38,3**	0,69 0,33	0,51	**45,7**	0,93	0,93		0,81 0,47	0,64	**17,9**	0,56 0,57	0,56		0,50 0,76	**0,63**	
— 0,85	0,85	**11,4**	— —	—	—	1,18 1,21	1,19	—	0,87 0,94	0,80		— 0,47	0,47	**39,8**	0,80 0,65	0,72		0,98 0,98	0,98	
— 0,86	0,86	**11,0**	0,43 0,76	0,60	**36,1**	0,41 0,63	0,52	**45,0**	— —	—		1,25 0,98	1,11	—	0,22 0,37	0,30	**50,0**	0,13 0,49	**0,31**	**32,6**

Die Frage, ob das Pankreas als Quelle der nucleolytischen Fermente oder ihrer Aktivatoren aufgefaßt werden kann, bleibt offen. Was die nucleolytische Wirkung des Pankreas anbetrifft, so ist dieselbe nicht höher als in vielen anderen Organen.

Nehmen wir den für Pankreas bestimmten Mittelwert (1,07), so muß derselbe seiner nucleolytischen Wirkung nach an den 6. Platz gestellt werden.

Am richtigsten scheint die Voraussetzung, daß das Pankreas die Quelle der nucleolytischen Aktivatoren darstellt, und daß die Abnahme der nucleolytischen Energie durch Ausfall der innersekretorischen Pankreastätigkeit bedingt wird, und daß diese Störung nicht ohne Einfluß auf den intracellularen Stoffwechsel bleiben kann.

Zusammenfassung.

Die totale Pankreasexstirpation bedingt eine bedeutende Abnahme der nucleolytischen Wirkung des Serums und aller von mir untersuchten Gewebe bei Hunden.

Zur Frage nach der fermentativen Tätigkeit des Blutes und der Organgewebe bei Pankreasexstirpation.

III. Mitteilung.

Über die Diastase.

Von

W. Stawraki.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin in St. Petersburg.)

(Eingegangen am 6. Juli 1914.)

Über die Rolle des Pankreas bei Versorgung der Organgewebe mit diastatischen Fermenten liegen in der Literatur zahlreiche Forschungen vor. Lépine-Barral[1]) und Kaufmann[2]) waren meines Wissens die ersten, die eine bedeutende Abnahme der diastatischen Wirkung des Blutes nach Pankreasexstirpation bei Hunden konstatierten. Diese Tatsache wurde von verschiedenen Forschern (Loeper und Ficai[3]), Schlesinger[4]), Wohlgemuth[5]), Moeckel-Rost[6]), Otten-Galloway[7]) und anderer) bestätigt, d. h. alle konstatierten bei Pankreasexstirpation eine bedeutende Abnahme der diastatischen Energie des Blutes und einiger Organe (in der Leber Bang[8]) u. a.). Was die Zeit des Eintritts der fermentativen Abnahme nach Pankreasexstirpation und die Rolle des Pankreas als Quelle dieser Fermente, sowie einige andere Fragen anbetrifft, so gelangten

---

[1]) Lépine und Barral, Revue de Méd. **1892**, 488.

[2]) Kaufmann, Compt. rend. Soc. Biol. **46**, 130, 1894.

[3]) Loeper und Ficai, Arch. de méd. expérim. **19**, 722, 1907.

[4]) Schlesinger, Deutsche med. Wochenschr. **1908**, 593.

[5]) Wohlgemuth, diese Zeitschr. **21**, 381, 1909.

[6]) Moeckel und Rost, Zeitschr. f. physiol. Chem. **67**, 462.

[7]) Otten und Galloway, Amer. Journ. of Physiol. **26**, 374, 1910.

[8]) I. Bang, M. Ljungdahl und V. Bohm, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 320, 1907.

die betreffenden Forscher zu widersprechenden Resultaten. Schlesinger[1]) u. a. sind geneigt, das Pankreas als Hauptquelle der diastatischen Fermente aufzufassen und vertreten die Ansicht, daß das Pankreas durch den Kreislauf des Blutes alle Organgewebe mit diastatischen Fermenten versorgt. Wohlgemuth, Moeckel-Rost u. a. dagegen halten die diastatischen Fermente des Blutes für ein Produkt der Lebenstätigkeit und des Stoffwechsels der Zelle verschiedener Organe (Leber, Nieren, Speicheldrüsen, Muskel und andere Organgewebe). Bei Entscheidung der Frage nach der Rolle des Pankreas bei Versorgung des Organismus mit diastatischem Ferment stützen die Forscher sich öfters auf durch quantitative Berechnungen der Fermentschwankungen des Blutes festgestellte Tatsachen.

Die Frage, ob der Organismus die durch Pankreasexstirpation herabgesetzte diastatische Energie der Gewebe durch kompensatorische Tätigkeit irgendeines anderen Organs steigern oder ersetzen kann, steht offen.

Um diese Frage aufzuklären, bestimmte ich, da derartige Untersuchungen meines Wissens fehlen, den Gehalt verschiedener Organgewebe an intracellulärem diastatischem Ferment bei pankreaslosen Hunden und stellte mir im allgemeinen folgende Fragen:

1. Wann beginnt die Abnahme der amylolytischen und saccharifizierenden Energie des Blutes bei Hunden nach totaler Pankreasexstirpation?

2. Wie lange dauert die Abnahme dieser fermentativen Eigenschaften des Blutes, wie lange bleibt sie herabgesetzt und findet nach einer gewissen Zeit bei pankreaslosen Hunden nicht Steigerung dieser herabgesetzten Energie statt?

3. Kann durch Bestimmungen der amylolytischen und saccharifizierenden Energie der Organgewebe pankreasloser Hunde bei verschiedener Lebensdauer nach der Operation vielleicht in Geweben einiger innerer Organe eine Steigerung dieser fermentativen Energie konstatiert werden und kann der Organismus die durch Pankreasexstirpation herabgesetzte diastatische Energie durch kompensatorische Tätigkeit irgendeines Organs oder Gewebes steigern?

---

[1]) Schlesinger, Verhdl. des Kongresses f. innere Med. 25, 505, 1908.

Versuchsanordnung.

Ohne hier auf die Frage, ob die Spaltung der Stärke als einheitlicher Vorgang aufzufassen ist, oder ob nicht zwei Fermentgruppen dabei mitwirken, von denen die eine Stärke bis Dextrin abbaut und die zweite aus Dextrin Zucker bildet, einzugehen, machte ich alle meine Untersuchungen nach zwei Methoden und bestimmte also die Umwandlung der Stärke in Dextrin (amylolytische) und den weiteren Abbau der Dextrine (saccharifizierende Wirkung).

Die Mehrzahl der Forscher, die die Beziehungen des Pankreas zum Kohlenhydratstoffwechsel aufzuklären versuchten, bedienten sich beim Studium der fermentativen Tätigkeit der Organgewebe der zweiten Methode, d. h. sie bestimmten die saccharifizierende Wirkung, und nur wenige arbeiteten nach der Wohlgemuthschen Methode. Aljoschin[1]), Tschernoruzki[2]), Lang[3]) und andere konnten bei gleichzeitiger Anwendung beider Methoden keinen Parallelismus beim Verlauf diastatischer Prozesse konstatieren. Jedenfalls könnte die gleichzeitige parallele Bestimmung der diastatischen Fermente nach beiden Methoden vielleicht gewisse Anhaltspunkte für die Zwei-Enzym-Theorie geben, und deshalb machte ich alle meine Bestimmungen nach beiden Methoden.

Unter dem Namen „diastatische Fermente“ will ich in dieser Abhandlung die Gruppe ähnlich wirkender Fermente, welche die Stärke spalten, verstehen.

Die nach Wohlgemuth erhaltenen Werte will ich bedingt als amylolytische Wirkung (Energie) und die nach der Reduktionsmethode erhaltenen als saccharifizierende Wirkung bezeichnen.

Bei Bestimmung der amylolytischen Wirkung des Blutes und der Organgewebe hielt ich mich an die Wohlgemuthsche[4]) Methodik und arbeitete immer mit einer frisch hergestellten $1^0/_0$igen Stärkelösung (Kahlbaum, Lösliche Stärke). Die einmal ausgearbeitete Methodik, wurde was den Versuch anbetrifft,

---

[1]) Aljoschin, Dissertation. Petersburg 1911 (russisch).

[2]) Tschernoruzki, Zeitschr. f. physiol. Chem. 75, 222.

[3]) Lang, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 8, 278, 1911.

[4]) Wohlgemuth, diese Zeitschr. 9, 1, 1908. — Derselbe, Grundriß der Fermentmethoden 1913.

im Laufe der ganzen Zeit strengstens eingehalten und deshalb sind die zu verschiedener Zeit erhaltenen Resultate natürlich vergleichbar. Das Serum wurde immer mit sterilem destilliertem Wasser 1 : 5 verdünnt und der Versuch in 6 sterilen Reagensgläsern angestellt. (0,1, 0,16, 0,25, 0,40, 0,64, 1,00 ccm des verdünnten Serums.) Ein jedes Reagensgläschen wurde mit 5 ccm der 1°/$_0$igen Stärkelösung versetzt, das Volumen mit sterilem Wasser bis auf 10 ccm angefüllt, mit Toluol überschichtet und für 24 Stunden in einen Thermostaten bei 38° gestellt. Nach Verlauf dieser Zeit wurden die Reagensgläser mit destilliertem Wasser bis auf eine Fingerbreite angefüllt und einige Tropfen $^n/_{10}$-Jodlösung hinzugetan. Die in Erythrodextrin umgewandelte Stärkelösung wurde immer auf 1 ccm Serum berechnet, so daß die von uns für die amylolytische Wirkung des Serums angegebenen Werte die Kubikzentimeter der 1°/$_0$igen Stärkelösung bedeuten, die durch 1 ccm Serum bei 38° in 24 Stunden in Erythrodextrin verwandelt werden.

Zur Bestimmung der fermentativen Wirkung der Organgewebe wurden aus getrockneten Organen[1]) Wasserextrakte (1 : 100) hergestellt und 1 bis 2 ccm der 1°/$_0$igen Stärkelösung mit steigenden Extraktmengen in sterilen Reagensgläsern versetzt, das Volumen mit destilliertem, sterilem Wasser bis auf 10 ccm angefüllt, mit Toluol überschichtet und für 24 Stunden in einen Thermostaten bei 38° gestellt. Die in Erythrodextrin umgewandelte Stärkelösung wurde immer auf 1 g trockne Substanz berechnet, so daß die von uns für die amylolytische Wirkung der Organgewebe erhaltenen Werte die Kubikzentimeter der 1°/$_0$igen Stärkelösung bedeuten, die durch 1 g des trocknen Organgewebes bei 38° in 24 Stunden in Erythrodextrin verwandelt werden. Die nächstfolgende Tabelle veranschaulicht unsere Versuchsanordnung mit Berechnung der amylolytischen Tätigkeit der Organgewebe auf 1 g trockene Substanz.

Reagensgläser	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Extraktmenge (1 : 100) in ccm	4,0	3,0	2,0	1,3	1,0	0,8	0,6	0,5	0,4	0,3
Steril. Wasser in ccm	5,0	6,0	7,0	7,7	8,0	8,2	8,4	8,5	8,6	8,7
1°/$_0$ige Stärkelösung in ccm	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Amylolyt. Wirkung $\frac{24\text{ Std.}}{38^0}$ =	25	33	50	76	100	125	166	200	250	333

[1]) Siehe Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 381.

In den meisten Fällen genügten zum Versuch 8 Reagensgläser (Nr. 3 bis 10), und nur selten, wo die amylolytische Wirkung den Wert 333 überstieg, mußte der Versuch in anderen, hier gleich veranschaulichten Verhältnissen angestellt werden.

Reagensgläser	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Extraktmenge (1 : 100) in ccm	2,0	1,3	1,0	0,8	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	—
Steril. Wasser in ccm	6,0	6,7	7,0	7,2	7,4	7,5	7,6	7,7	7,8	—
1⁰/₀ige Stärkelösung in ccm	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2.0	—
Amylolyt. Wirkung $\frac{24 \text{ Std.}}{38^0}$ =	100	153	200	250	333	400	500	666	1000	—

Bei einer solchen Versuchsanordnung konnten immer alle Abbaustufen der Stärkespaltung konstatiert werden und für die Berechnung der amylolytischen Tätigkeit bietet diese Anordnung praktische Vorteile, da die aus zwei Nachbargläschen berechnete Differenz der Werte immer ca. 20 bis 30⁰/₀ erreicht.

Zur Bestimmung der saccharifizierenden Wirkung des Serums und der Organgewebe wurden immer 0,2 ccm unverdünnten Serums oder 5 ccm Organextrakt (1 : 50) mit 5 ccm der 1⁰/₀igen Stärkelösung in sterilen Reagensgläsern versetzt, mit Toluol überschichtet und für 24 Stunden in einen Thermostaten bei 38⁰ gestellt. (Als Antisepticum kann Chloroform bei diesen Versuchen nicht dienen, da es Kupfer reduzierend wirkt.) Die Zuckerbestimmung wurde nach Bertrand ausgeführt. Die Extrakte einiger Organe wirken selbst Kupfer reduzierend (Leber, Nieren, Nebennieren und dazwischen andere Organe) und deshalb wurde bei Bestimmungen der saccharafizierenden Wirkung dieser Organe die betreffende Korrektur berücksichtigt.

Die Zahlen, durch die wir die saccharifizierende Wirkung des Serums und der Organgewebe ausdrücken, bedeuten die Milligramme Zucker, die durch 1 ccm Serum oder 1 g des trocknen Organs aus 5 ccm Stärke bei 38⁰ in 24 Stunden gebildet werden.

Die amylolytische Wirkung des Blutserums pankreasloser Hunde.

Der Versuch wurde gewöhnlich am Tage der Blutentnahme[1]) angestellt. Die nächstfolgende Tabelle veranschaulicht die Resultate.

[1]) Siehe Zeitschr. f. physiol. Chem. **89**, 381.

Tabelle I.

	Nummer der Hunde	Tag der Operation	Tag der Blutentnahme	Amylolytische Wirkung des Blutserums. Die Zahlen bedeuten die ccm der 1 %igen Stärkelösung, die durch 1 ccm Serum bei 38° in 24 Stunden in Erythrodextrin verwandelt werden.																			
				Vor der Operat.	Tage der Bestimmung nach der Operation																		
					2	3	4	5	6	7	8	9	11	12	14	15	17	19	20	23	27	32	36
An Peritonitis eingegangene pankreaslose Hunde	XII	24. IV.	26. IV.	156	83	—	—	—															
	XIV	23. III.	27. III.	156	62	—	—	—															
	XIII	27. II.	4. III.	156	156	—	—	83	—														
Pankreaslose Kurzversuchstiere	IV	15. III.	21. III.	156	—	83	—	—	100	—													
	V	19. III.	28. III.	156	62	—	50	—	—	50	—												
Pankreaslose Hunde mit deutlich ausgesprochen. Gelbsucht	IX	14. V.	20. V.	156	—	39	—	—	50	—	—	—											
	X	11. V.	20. V.	156	—	—	83	—	—	—	—	83	—										
Pankreasloser Hund mit unterbunden. Duct. choled.	XI	4. II.	16. II.	156	—	—	100	—	—	—	62	—	—	62									
Pankreaslose Dauerversuchstiere.	VI	18.V.	7. VI.	156	—	—	62	—	—	—	100	—	156	—	100	—	62	—	62	—	—	—	—
	VII	13.XII.	3. I.	156	62	—	—	—	39	—	—	—	—	62	—	—	—	—	39	—	—	—	—
	VIII	22.V.	27. VI.	156	—	83	—	—	100	—	—	100	—	62	—	62	—	62	—	62	62	62	62

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß sehr bald nach der Pankreasexstirpation eine Abnahme der amylolytischen Wirkung des Blutserums stattfindet (bei den Hunden XII, XIV, V und VII schon am zweiten, bei Nr. IV, VIII und IX am dritten Tage). Diese Resultate bestätigen den Befund Schlesingers, daß 24 bis 48 Stunden nach der Pankreasexstirpation die Abnahme der amylolytischen Energie schon sehr bedeutend ist.

Bei einigen pankreaslosen Hunden wurde nach Abnahme der amylolytischen Energie eine vorübergehende Steigerung konstatiert, die beim Hunde VI am 11. Tage nach der Operation die frühere Voroperationsnorm erreichte, dann wieder abnahm und bis zum 20. Tage herabgesetzt blieb. Beim Hunde VII wurde während der ganzen postoperativen Periode eine, seit dem 2. Tage nach der Exstirpation konstatierte Abnahme ohne temporäre Steigerung beobachtet. Beim Hunde VIII welcher 36 Tage nach der Exstirpation lebte, fand vom 6. bis 9. Tage eine sehr geringe Steigerung statt, die wieder schnell abnahm und bis zum Ende des Lebens herabgesetzt blieb. Bei allen von mir untersuchten Hunden war die Abnahme der amylolytischen Energie des Serums nach der Pankreasexstirpation recht bedeutend und eine Rückkehr zur früheren Norm konnte ich niemals konstatieren. Untersucht wurden von mir 20 normale Hunde, von denen ich für 19 den Wert 156 für die amyloytische Wirkung des Serums konstatierte. Dieser für 19 normale Hunde konstante Wert spricht zugunsten der Wohlgemuthschen Methode.

Die Pankreasexstirpation bedingt also eine bedeutende und schnelle, bis zum Ende des Lebens anhaltende Abnahme der amylolytischen Energie des Blutes.

Bei pankreaslosen Hunden mit deutlich ausgesprochener Gelbsucht findet ebenfalls eine Abnahme der amylolytischen Energie des Blutes statt.

Beim pankreaslosen Hunde XI mit unterbundenem Duct. choled. wurde auch eine deutlich ausgesprochene Abnahme der amylolytischen Energie des Blutes konstatiert. Trotzdem die Cholemie hier stark ausgesprochen war, blieb die amylolytische Energie des Blutes doch herabgesetzt; eine amylolytische Fermente

Tabelle II.

	Nummer der Hunde	Tag der Operation	Tag der Blutentnahme	Saccharifizierende Wirkung des Blutserums. Die Zahlen bedeuten die Millgramme Glucose, die durch 0,2 ccm Serum aus 5 ccm $1^0/_0$iger Stärkelösung bei 38^0 in 24 Stunden gebildet werden.																			
					Tage der Bestimmung nach der Operation																		
				Vor der Operat.	2	3	4	5	6	7	8	9	11	12	14	15	17	19	20	23	27	32	36
An Peritonitis gefallene pankreaslose Hunde.	XII	24. IV.	26. IV.	145	120	—	—	—	—														
	XIV	23. III.	27. III.	170	170	—	—	—	—														
	XIII	27. II.	4. III.	190	—	—	—	145	—														
Pankreaslose Kurzversuchstiere	IV	15. III.	21. III.	165	—	95	—	—	110	—	—												
	V	19. III.	28. III.	175	145	—	110	—	—	120	—												
Pankreaslose Hunde mit deutl. ausgesprochener Gelbsucht.	IX	14. V.	20. V.	150	—	85	—	—	110	—	—	—											
	X	11. V.	20. V.	160	—	—	135	—	—	—	—	145											
Pankreasloser Hund mit unterbund. Duct. choled.	XI	4. II.	16. II.	160	—	—	145	—	—	—	110	—	—	110	—								
Pankreaslose Dauerversuchstiere.	VI	18. V.	7. VI.	145	—	—	120	—	—	—	140	—	145	—	145	—	95	—	95	—	—	—	—
	VII	13. XII.	3. I.	135	95	—	—	—	70	—	—	—	—	85	—	—	—	—	70	—	—	—	—
	VIII	22. V.	27. VI.	155	—	110	—	—	95	—	—	95	—	80	—	85	—	100	—	85	90	90	85

aktivierende Rolle der Galle bei pankreaslosen Hunden konnte nicht konstatiert werden.

Aus den Beobachtungen Wohlgemuths[1]) ging eine, amylolytische Fermente in vitro aktivierende Rolle der Galle hervor.

Mir liegt der Gedanke, diese intra vivam und in vitro gemachten Beobachtungen zu vergleichen, natürlich fern.

Die saccharifizierende Wirkung des Blutserums pankreasloser Hunde.

Die in Tabelle II dargestellten Werte können natürlich nicht mit denen der Tabelle I verglichen werden, doch ist der Charakter der unter dem Einfluß der Pankreasexstirpation konstatierten Veränderungen derselbe.

Bei allen Versuchshunden wurde eine kurz nach der Pankreasexstirpation eintretende, bis zum Ende des Lebens anhaltende Abnahme der saccharifizierenden Energie des Blutserums konstatiert. Bei gelbsüchtigen Hunden und beim Hunde mit unterbundenem Duct. choled. fand dieselbe Abnahme statt.

Die amylolytische und saccharifizierende Wirkung einiger Organgewebe pankreasloser Hunde.

Die Resultate der Untersuchungen aller Organgewebe sind in einer allgemeinen Tabelle dargestellt. Da die Leber und Muskeln besonderes Interesse bieten, will ich den Verlauf des Versuchs dieser Organe ausführlich protokollieren, wie Wohlgemuth es in seinen Abhandlungen tut. Die Trockensubstanz[2]) ist für ein jedes Organ in der Tabelle angegeben.

Wie aus der Tabelle III zu ersehen ist, wurde bei allen Hunden eine Abnahme der amylolytischen und saccharifizierenden Energie, die zum 6. Tage nach der Operation stark ausgesprochen war, konstatiert. Beim gelbsüchtigen Hunde X war die Abnahme geringer als bei anderen Kurzversuchen.

---

[1]) Wohlgemuth, diese Zeitschr. **21**, 447, 1909.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **89**, 581.

Tabelle III.

Die amylolytische Wirkung der Leber normaler und pankreasloser Hunde.

Extraktmenge (1:100) in ccm bei 1 ccm 1%iger Stärkelösung	Normale Hunde			Extraktmenge (1:100) in ccm bei 1 ccm 1%iger Stärkelösung	Pankreaslose Hunde						
					Kurzversuche		Gelbsüchtige Kurzversuche		Dauerversuche		
	I	II	III		IV	V	IX	X	VI	VII	VIII
1,0	+	+	+	2,0	+	+	+	+	+	+	+
0,8	+	+	+	1,3	limes	limes	limes	+	limes	+	limes
0,6	+	limes	+	1,0	—	—	—	+	—	+	—
0,5	limes	—	limes	0,8	—	—	—	limes	—	+	—
0,4	+	—	—	0,6	—	—	—	—	—	limes	—
0,3	+	—	—	0,5	—	—	—	—	—	—	—
Amyl. $\frac{T.\ 38^0}{24}$	333	250	333		50	50	50	100	50	120	50
Trockensubstanz in %	31,5	21,3	27,8		43,3	37,0	39,8	41,0	52,4	30,4	56,0
Saccharifizierende Wirkung											
Diast. $\frac{T.\ 38^0}{24}$	190	210	180		88	100	100	140	100	170	100

Tabelle IV.

Die amylolytische Wirkung der Rumpfmuskeln normaler und pankreasloser Hunde.

Extraktmenge (1:100) in ccm bei 1 ccm 1%iger Stärkelösung	Normale Hunde			Pankreaslose Hunde							
				Kurzversuche		Gelbsüchtige Kurzversuche		Extraktmenge (1:100) in ccm bei 2 ccm 1%iger Stärkelösung	Dauerversuche		
	I	II	III	IV	V	IX	X		VI	VII	VIII
2,0	+	+	+	+	+	+	+	0,8	+	+	+
1,3	+	+	limes	+	+	+	+	0,6	+	+	+
1,0	+	limes	—	+	+	+	+	0,5	limes	+	+
0,8	+	—	—	+	+	+	+	0,4	—	+	limes
0,6	limes	—	—	limes	+	limes	limes	0,3	—	+	—
0,5	—	—	—	—	limes	—	—	0,2	—	limes	—
Amyl. $\frac{T.\ 38^0}{24}$	125	76	50	125	167	125	125		333	666	400
Trockensubstanz in %	26,7	25,2	23,8	29,9	28,5	25,3	24,8		25,2	20,4	21,4
Saccharifizierende Wirkung											
Diast. $\frac{T.\ 38^0}{24}$	110	80	45	160	180	130	200		200	350	240

Wie aus der Tabelle IV zu ersehen ist, wurde bei pankreaslosen Hunden in den Muskeln eine Steigerung der amylolytischen und saccharifizierenden Energie konstatiert. Sehr stark ausgesprochen war diese Steigerung bei Hunden, die mehr als 20 Tage nach der Operation lebten.

Die beiden nächstfolgenden Tabellen veranschaulichen die von mir für die amylolytische und saccharifizierende Wirkung verschiedener Organgewebe erhaltenen Werte. In der zweiten Rubrik sind die Mittelwerte für die einzelnen Gruppen der von mir untersuchten Versuchstiere angegeben.

Zur ersten Gruppe gehören die normalen Hunde (Kontrolltiere).

Zur zweiten Gruppe: pankreaslose Kurzversuchstiere.

" dritten " " gelbsüchtige Kurzversuchstiere.

Zur vierten Gruppe: Dauerversuchstiere.

In der dritten Rubrik steht der für die betreffende Gruppe zur Zahl 100 der Norm berechnete Wert, d. h. bezeichnen wir die amylolytische Energie der Norm mit 100, so finden wir für die betreffende Gruppe den in der dritten Rubrik stehenden Wert.

In der vierten Rubrik ist die in Prozenten berechnete Abnahme dargestellt.

Wie aus den Tabellen V und VI zu ersehen ist, findet bei pankreaslosen Hunden eine deutlich ausgesprochene Abnahme der amylolytischen und saccharifizierenden Energie statt.

In den Organen der am 6. bis 9. Tage nach der Pankreasexstirpation durch Blutentnahme getöteten Hunde ist diese Abnahme deutlicher ausgesprochen als in den Organen der Dauerversuchstiere. In den Rumpfmuskeln findet bei pankreaslosen Hunden im Gegenteil eine Steigerung der amylolytischen und saccharifizierenden Energie statt, und dieselbe ist bei Dauerversuchstieren am deutlichsten ausgesprochen.

Bei 8 von mir untersuchten pankreaslosen Hunden wurde mit Ausnahme des Hundes XIII schon 24 bis 48 Stunden nach der Operation eine bedeutende Abnahme der amylolytischen und saccharifizierenden Energie des Blutes konstatiert.

Tabelle V.

Die amylolytische Energie der Organgewebe normaler und pankreasloser Hunde.

	Nummer der Hunde	Gehirn				Hoden (Testicul.)				Nebennieren				Schilddrüsen				Unterkiefer-Speicheldrüsen				Gland. lingualis			
		Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %
Gesunde Hunde	I II III	38 12,5 12,5	21	100	—	333 — 250	290	100	—	125 100 100	108	100	—	100 50 50	66	100	—	200 100 166	155	100	—	200 166 166	144	100	—
Pankreaslose Kurzversuchstiere	IV V	6 6	6	28,5	**71,5**	50 50	50	17	**83,0**	— —	—	—	—	37,5 —	37	56,1	**43,9**	— 33	33	21,2	**78,8**	— 50	50	34,7	**65,3**
Gelbsüchtige pankreaslose Kurzversuchstiere	IX X	12,5 12,5	12	57	**43,0**	— 76	76	26	**74,0**	25 76	50	46,3	**53,7**	25 —	25	37,8	**26,2**	33 50	41	26,4	**73,6**	— 76	76	52,9	**47,1**
Pankreaslose Dauerversuchstiere	VI VII VIII	25 12,5 25	21	100	—	— 76 —	76	26	**74,0**	50 — 50	50	46,3	**53,7**	25 — 37,5	31	47,1	**52,9**	76 — 50	63	40,5	**59,5**	76 — 100	88	61,3	**38,7**

	Nummer der Hunde	Milz				Lunge				Nieren				Leber				Herzmuskel				Rumpfmuskel			
		Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die amylolytische Wirkung[1]	Die Mittelwerte der amylolyt. Wirkung	Vergleich mit 100 der Norm	Zunahme
Gesunde Hunde	I II III	200 250 166	205	100	—	400 333 333	355	100	—	400 333 333	355	100	—	333 250 333	305	100	—	125 100 76	100	100	—	125 76 50	84	100	—
Pankreaslose Kurzversuchstiere	IV V	50 50	50	24,3	**75,7**	125 100	112	31,5	**68,5**	50 50	50	14,0	**86,0**	50 50	50	16,3	**83,7**	25 33	29	29	**71,0**	125 167	145	172	**+ 72**
Gelbsüchtige pankreaslose Kurzversuchstiere	IX X	50 76	63	30,5	**69,5**	125 200	162	46,9	**53,1**	100 100	100	28,1	**71,9**	50 100	75	24,6	**75,4**	25 50	38	38	**62,0**	125 125	125	142	**+ 42**
Pankreaslose Dauerversuchstiere	VI VII VIII	50 125 100	137	66,6	**33,4**	125 125 125	125	35,2	**64,8**	100 200 100	133	37,4	**62,6**	50 125 50	75	24,6	**75,4**	76 125 76	92	92	**8,0**	333 666 400	466	554	**+454**

[1]) Die Zahlen bedeuten die Kubikzentimeter der 1%igen Stärkelösung, die durch 1 g trockene Substanz bei 38° in 24 Stunden in Erythrodextrin verwandelt werden.

Tabelle VI.

Die saccharifizierende Wirkung der Organgewebe normaler und pankreasloser Hunde.

	Nummer der Hunde	Gehirn				Hoden (Testicul.)				Nebennieren				Schilddrüsen				Unterkiefer-Speicheldrüsen				Glandulae sublingualis			
		Die saccharifizierende Energie [1]	Die Mittelwerte der saccharifiz. Energie	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die saccharifizierende Energie [1]	Die Mittelwerte der saccharifiz. Energie	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die saccharifizierende Energie [1]	Die Mittelwerte der saccharifiz. Energie	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die saccharifizierende Energie [1]	Die Mittelwerte der saccharifiz. Energie	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die saccharifizierende Energie [1]	Die Mittelwerte der saccharifiz. Energie	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %	Die saccharifizierende Energie [1]	Die Mittelwerte der saccharifiz. Energie	Vergleich mit 100 der Norm	Abnahme in %
Gesunde Hunde	I II III	0 0 30	10	100	Zunahme —	210 — 180	195	100	—	250 210 160	206	100	—	100 50 50	130	100	—	240 160 170	180	100	—	180 198 180	183	100	—
Pankreaslose Kurzversuchstiere	IV V	0 20	10	100	—	100 90	95	49,0	**51,0**	— —	—	—	—	— —	—	—	—	— 80	80	44,4	**63,6**	— —	—	—	—
Gelbsüchtige pankreaslose Kurzversuchstiere	IX X	0 25	12	120	+20	— 110	110	56,3	**43,2**	90 100	**95**	46,2	**53,8**	— 80	80	63,7	**28,3**	70 90	80	44,4	**63,6**	— 120	120	65,7	**34,5**
Pankreaslose Dauerversuchstiere	VI VII VIII	30 20 30	16	160	**+60**	— 130 —	130	66,6	**33,4**	85 — 100	**93**	45,2	**54,8**	90 — 100	95	73,2	**26,2**	110 — 100	105	58,3	**41,7**	120 — 140	130	71,4	**28,6**

	Nummer der Hunde	Milz				Lunge				Nieren				Leber				Herzmuklel				Rumpfmuskel			
Gesunde Hunde	I II III	110 160 140	136	100	—	210 230 220	220	100	—	160 200 190	183	100	—	190 210 180	193	100	—	110 130 90	110	100	—	100 80 45	78	100	Zunahme —
Pankreaslose Kurzversuchstiere	IV V	90 70	80	58,8	**41,2**	180 110	145	66,2	**33,8**	90 80	85	46,5	**53,5**	88 100	**94**	48,7	**51,3**	90 80	85	77,5	**22,5**	160 180	170	217	**+ 117**
Gelbsüchtige pankreaslose Kurzversuchstiere	IX X	70 90	80	58,8	**41,2**	170 210	190	86,9	**13,1**	110 150	130	71,4	**28,6**	100 140	120	62,5	**37,5**	70 80	75	68,5	**31,5**	130 200	165	211	**+ 111**
Pankreaslose Dauerversuchstiere	VI VII VIII	90 110 80	93	68,4	**31,6**	150 160 180	163	74,6	**25,4**	170 200 180	183	100	**0,0**	100 170 100	123	63,4	**36,4**	90 110 90	**96**	87,7	**12,3**	200 350 240	263	337	**+ 237**

[1]) Die Zahlen bedeuten die Milligramme Glucose, die durch 1 g trockene Substanz aus 1% Stärkelösung (5 ccm im Versuch) bei 38° in 24 Stunden gebildet werden.

Durch diesen Befund werden Schlesingers[1]), von Wohlgemuth[2])[3]) bestrittene, Beobachtungen bestätigt. Eine Erklärung dieses Widerspruches können wir in der Abhandlung von Wohlgemuth[3]) finden, wo er berichtet, daß bei Blutentnahme aus der Vena pancreat. eine geringste Berührung des Pankreas, das seinem Diastasegehalte nach an erster Stelle steht, zu fehlerhaften Schlußfolgerungen führt. Wurden von Wohlgemuth die nötigen Vorsichtsmaßregeln bei Blutentnahme aus der Vena pancreat. berücksichtigt und war eine Berührung des Pankreas ausgeschlossen, so konnte bei Vergleichsversuchen im Blute der Vena pancreat. kein höherer Diastasegehalt als in den anderen Gefäßen konstatiert werden. Ich will hier ganz besonders betonen, daß in allen Fällen, wo die Pankreasexstirpation von mir ohne Verletzung resp. ohne Ruptur des Pankreas ausgeführt wurde, und wo nicht die geringsten Spuren an der Darmwand zurückblieben, immer 24 bis 48 Stunden nach der Operation die bedeutende Abnahme der erwähnten fermentativen Wirkung des Blutes konstatiert wurde. Ich will natürlich nicht behaupten, daß bei tadelloser Exstirpation keine individuellen Abweichungen beobachtet werden können. In diesen Fällen (XIII), wo das Pankreas während der Operation verletzt resp. zerrissen wurde, oder wo vielleicht an der Darmwand die geringsten Spuren zurückblieben, konnte 24 Stunden keine Abnahme konstatiert werden. Bei diesen Versuchen ist es durchaus erforderlich, für totale Pankreasexstirpation ohne Ruptur des Pankreas zu sorgen. Um nach der Operation das Übertragen der an der Darmwand anhaftenden Fermente in die Bauchhöhle zu vermeiden, wurde der Darm sorgfältigst mit physiologischer Kochsalzlösung übergossen und für Nichtabfließen dieser Lösung in die Bauchhöhle strengstens gesorgt. Bleiben Pankreasreste an der Darmwand zurück, oder werden mit dem Darm Fermente in die Bauchhöhle hineingetragen, so wird in den ersten Tagen der postoperativen Periode natürlich keine Abnahme, sondern Steigerung der betreffenden Fermente im Blute konstatiert werden.

Die Abnahme der fermentativen Energie des Blutes wurde

---

[1]) Schlesinger, Verhdl. d. Kongr. f. inn. Med. 25, 808, 1908.

[2]) Wohlgemuth, ebenda.

[3]) Wohlgemuth und Ehrmann, diese Zeitschr. 21, 423.

in meinen Versuchen immer kurz nach der Pankreasexstirpation beobachtet und erreichte in den ersten Tagen der postoperativen Periode 50 bis 70%, stieg dann gewöhnlich zum 6. bis 9. Tage temporär und blieb bis zum Schluß des Lebens herabgesetzt. Einen vollständigen Verlust der amylolytischen und saccharifizierenden Energie konnte auch ich niemals konstatieren.

Die Abnahme der amylolytischen und saccharifizierenden Energie der Organgewebe war bei am 6. bis 9. Tage der postoperativen Periode getöteten Hunden deutlicher ausgesprochen als bei Dauerversuchstieren. Die Abnahme der fermentativen Energie der Gland. submaxill. und sublingual. erreichte bei Kurzversuchen 65 bis 78%, bei Dauerversuchen 38%, d. h. in diesen beiden Drüsen und in den Nieren wurde eine im allgemeinen den übrigen Organen ähnliche Abnahme konstatiert. Offenbar wird von der Gland. submaxill. und sublingual. und von den Nieren keine kompensatorische Tätigkeit, was die Versorgung des Organismus mit diastatischen Fermenten bei Pankreasexstirpation anbetrifft, entfaltet.

Aus meinen Versuchen geht eine bedeutende Abnahme der amylolytischen (83 bis 75%) und der saccharifizierenden Wirkung der Leber (51 bis 36%) deutlich hervor.

Diese bei pankreaslosen Tieren von Bang und anderen schon früher konstatierte Abnahme der diastatischen Wirkung der Leber wird von verschiedenen Forschern verschieden erklärt. Schlesinger vertritt die Ansicht, daß durch Pankreasexstirpation die direkte Zufuhr der Fermente durch die Vena pancreat. eingestellt wird, Bang[1]) und andere dagegen wollten den Grund in Störungen der Innervation sehen. Frank und Isaak[2]) bestimmten die Schwankungen des Zuckergehaltes im Blute mit Phlorizin vergifteter Tiere und konstatierten, daß die Zuckerabnahme des Blutes mit der Periode der größten Fettablagerung in der Leber übereinstimmt. Moeckel und Rost[3]) versuchten das dadurch zu erklären, daß in der verfetteten Leber der Kohlenhydratumsatz stark herabgesetzt ist. Diese beiden Forscher stellten ihre Vergiftungsversuche mit

[1]) I. Bang, M. Ljungdahl und V. Bohm, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 408, I. Mitteil.; 10, II. Mitteil. und S. 312, III. Mitteil.

[2]) Frank und Isaak, Kongr. f. inn. Med. 1910, 27.

[3]) Moeckel und Rost, l. c.

Phlorizin an hungernden Tieren und hofften durch diese Versuche die Rolle der Leber bei Versorgung des Organismus mit diastatischen Fermenten aufzuklären. Eine solche Versuchsanordnung könnte nach ihrer Meinung auf indirektem Wege den Zusammenhang zwischen den Schwankungen im Diastasegehalt des Blutes und der herabgesetzten Leberfunktion aufklären und zum Teil die sehr schwierigen Versuche mit der Leberexstirpation ersetzen. Diese Vergiftungsversuche mit Phlorizin und die dabei konstatierte Abnahme des Diastasegehaltes des Blutes, bei gleichzeitiger Fettinfiltration der Leber (Rosenfeld), führen Moeckel und Rost zur Schlußfolgerung, daß die Leber den Organismus zum Teil mit diastatischen Fermenten versorgt.

Nach Pankreasexstirpation steigt der Gehalt des infiltrierten Fettes in der Leber bis um das 20fache und deshalb[1]) sind die für den Diastasegehalt der Leber konstatierten Werte selbstverständlich niedriger als in Wirklichkeit, und die Abnahme der diastatischen Wirkung ist geringer als sie konstatiert wird. Berücksichtigen wir bei Berechnung der fermentativen Wirkung der Leber ihren Fettgehalt, so erhalten wir bedeutend höhere Werte als ohne Fettberücksichtigung, doch kann aber trotzdem eine Abnahme der diastatischen Wirkung konstatiert werden. Bei einer so kolossalen Fettinfiltration sind die Zellen der Leber in sehr ungünstige Verhältnisse versetzt; alle fermentativen Prozesse des Kohlenhydratstoffwechsels müssen stark unterdrückt sein, und deshalb sind wir wohl kaum zur Annahme berechtigt, daß die Zellen der Leber eine kompensatorische Tätigkeit, was die Versorgung des Organismus mit diastatischen Fermenten bei Pankreasexstirpation anbetrifft, entfalten können. Meine Versuche lösen diese Frage nicht, da es überhaupt schwierig ist, bei einer so enorm großen Fettinfiltration die physiologische Rolle der Leber zu beurteilen.

In den Rumpfmuskeln pankreasloser Hunde wurde eine vom 6. bis 9. Tage der postoperativen Periode deutlich ausgesprochene Steigerung der amylolytischen (42 bis 76%) und saccharifizierenden Wirkung (107 bis 111%) konstatiert. Bei Hunden, die mehr als 20 Tage nach der Operation lebten, er-

---

[1]) Siehe Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 381.

reichte die Steigerung der amylolytischen Wirkung 454 %, die der saccharifizierenden 237 %. Die fermentative Wirkung der Herzmuskel war im Gegenteil herabgesetzt wie in allen von mir untersuchten Organgeweben. Bang[1]) und seine Mitarbeiter berührten die Frage nach der Existenz des Muskeldiabetes und vertreten die Ansicht, daß das Reizen der peripherischen Enden der Nervenstämme zur Glucosurie führt. Schirokauer[2]), Moeckel und Rost[3]) konnten beim Schneiden und Reizen des peripherischen Endes des N. vagus keine Steigerung der Diastase im Blute konstatieren. Ob bei diesen Versuchen eine Steigerung der Diastase in den Muskeln stattfindet, steht offen, da die Bestimmung der diastatischen Fermente des Blutes diese Frage nicht löst.

Bei denselben Versuchen mit dem N. vagus konnten Carlson und Luckhard[4]) doch eine Steigerung der diastatischen Fermente im Blute konstatieren.

Für den Kohlenhydratstoffwechsel sind die Muskeln von hervorragender Bedeutung, und deshalb ist die Frage nach der Produktion und Versorgung des Organismus mit diastatischen Fermenten aus den Muskeln von bedeutendem Interesse.

Moeckel und Rost zeigten, daß bei Strychninvergiftungen bei Eintritt der Krämpfe eine Steigerung der diastatischen Fermente im Blute stattfindet, doch wollen sie nicht durch diese Versuche die Frage lösen, ob die Muskeln als Quelle der diastatischen Fermente zu betrachten sind, da mit Strychninkrämpfen eine ganze Reihe mechanischer, stimulierender Momente verbunden ist, und das Eintreten diastatischer Fermente ins Blut aus anderen Geweben und Organen nicht ausgeschlossen. Goebel[5]) konnte bei Strychninvergiftungen keine Steigerung der diastatischen Fermente in den Muskeln konstatieren und zeigte, daß Coffein auf die diastatische Wirkung der Froschmuskel impulsierend wirkt. Aus meinen Versuchen geht hervor, daß bei Pankreasexstirpation und einer durch kolossale Fettinfiltration bedingten Unter-

---

[1]) Bang und Mitarbeiter, l. c.

[2]) Schirokauer, Zeitschr. f. klin. Med. **70**, 103, 1910.

[3]) Moeckel und Rost, l. c.

[4]) Carlson und Luckhardt, Journ. of Phys. **23**, 1908.

[5]) Goebel, Dissertation. Petersburg 1905.

drückung der Leberzellen die Rumpfmuskeln eine kompensatorische Tätigkeit, was die Versorgung des Organismus mit diastatischen Fermenten anbetrifft, entfalten. Die Rumpfmuskeltätigkeit ist beim Kohlenhydratstoffwechsel von hervorragender Bedeutung, und es ist möglich, daß die diastatischen Fermente von den Muskeln produziert werden können und dann durch den Kreislauf des Blutes offenbar kompensatorisch den verschiedenen Geweben des Organismus zugeführt werden.

Was die Frage nach den Leukocyten als Quelle diastatischer Fermente anbetrifft, so wurde sie von mir nicht berührt. Vor einiger Zeit erschien die Arbeit von Dr. M. Pawloff[1]), der bei Pankreasexstirpation eine Steigerung der amylolytischen Fermente in den Leukocyten konstatierte. Durch diese interessante Tatsache können die von verschiedenen Forschern und mir gemachten Veränderungen bei Pankreasexstirpation gewissermaßen ergänzt werden. Die Frage, ob die Leukocyten als Quelle amylolytischer Fermente auftreten können, bleibt doch offen, da die Annahme, daß sie als Überträger diastatischer Fermente wirken können, nicht ausgeschlossen ist. Die gleichzeitige Bestimmung der diastatischen Wirkung nach zwei Methoden deutet auf einen Parallelismus zwischen der amylolytischen und saccharifizierenden Wirkung, doch sind die für diese Wirkungen erhaltenen Werte nicht vergleichbar. Bei pankreaslosen Hunden wurde nach beiden Methoden eine Abnahme der diastatischen Wirkung aller Gewebe mit Ausnahme der Rumpfmuskeln konstatiert.

Schlußfolgerungen.

Bei pankreaslosen Hunden findet eine beträchtliche Abnahme der amylolytischen und saccharifizierenden Wirkung des Blutes und der Organgewebe statt. Die bedeutende Abnahme der diastatischen Wirkung des Blutes wird 24 bis 48 Stunden nach der Pankreasexstirpation konstatiert; vom 6. bis 9. Tage der postoperativen Periode findet eine geringe temporäre Steigerung statt. Zum vollständigen Verschwinden der

[1]) M. Pawloff, Charkoff. Med. Zeitschr. 1914 (russisch).

diastatischen Wirkung des Blutes kommt es bei Pankreasexstirpation niemals.

Die amylolytische und saccharifizierende Wirkung der Gland. submax. und sublingual. sowie der Nieren ist bei pankreaslosen Hunden nicht weniger als in den übrigen von mir untersuchten Geweben herabgesetzt.

Die Abnahme der diastatischen Wirkung ist bei pankreaslosen Hunden in der Leber ebenso ausgesprochen, doch sind wir nicht berechtigt, daraus bestimmte Schlußfolgerungen zu ziehen, d. h. die Leber als Quelle diastatischer Fermente zu betrachten, da die schon in den ersten Tagen der postoperativen Periode auftretende kolossale Fettinfiltration eine allgemeine Unterdrückung der Leberzellen bedingt.

Nur in den Rumpfmuskeln pankreasloser Hunde findet eine am 10. Tage der postoperativen Periode deutlich ausgesprochene Steigerung der amylolytischen und saccharifizierenden Wirkung statt, die bei Hunden, die mehr als 20 Tage nach der Operation leben, besonders stark ausgesprochen ist. Die Exstirpation des Pankreas — der Hauptquelle diastatischer Fermente, aus der offenbar alle Gewebe des Organismus versorgt werden — bedingt eine Steigerung der diastatischen Wirkung der Rumpfmuskeln, die wahrscheinlich eine kompensatorische Produktion und Versorgung entfalten können.

Die Abnahne der diastatischen Wirkung des Blutes pankreasloser Hunde wird durch Galleneintritt ins Blut nicht beeinflußt und ist bei deutlich ausgesprochener Cholemie dieselbe wie bei pankreaslosen Hunden ohne Galleneintritt ins Blut.

Weitere Beiträge zur Kenntnis der Abderhaldenschen Reaktion.

Von

Helmuth Thar und Nina Kotschneff.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin, Petersburg.)

(Eingegangen am 6. Juli 1914.)

In unserer ersten Abhandlung[1]) haben wir durch Aminostickstoffbestimmungen der Dialysate gezeigt, daß normales Menschenserum Placentaeiweiß nicht abbaut, und daß unter Einwirkung des Serums Gravider Abbau stattfindet. Die Fragen, ob das Serum Gravider nur Placentaeiweiß oder auch Eiweiß anderer Organe abbaut und ob Sera verschiedener Kranker nicht auch Placentaeiweiß abbauen, stehen offen. Unsere weiteren Experimente, über die wir hier berichten wollen, umfassen derartige Versuche. Alle Organe wurden nach der Abderhaldenschen Vorschrift hergestellt.

Versuche mit Seren Gravider und Lungengewebe.

Die Versuchsanordnung war hier und in allen folgenden Versuchen dieselbe, wie wir sie in unserer ersten Abhandlung beschrieben, d. h. es wurde 1 ccm Serum Gravider als Kontrolle und 1 ccm desselben Serums mit ca. 0,5 g Lungengewebe in Dialysierhülsen versetzt, nach 20 Stunden die Ninhydrinreaktion, die ausnahmslos negativ ausfiel, angestellt und die zweite Hälfte des Serum- und des Lungengewebeserum-Dialysats in zwei Sammelflaschen gegossen, die Kolben mit sterilem Wasser nachgewaschen und die mit Toluol versehenen Flaschen auf Eis gestellt. Die beiden Dialysate wurden im Vakuum bei 37° auf 100 ccm eingeengt, mit 3,5 ccm konz. Schwefelsäure ver-

[1]) Diese Zeitschr. 63, 483.

setzt und im Laufe von 1 1/2 Stunden im Autoklaven bei 175° erhitzt. Das aus Harnstoff durch Hydrolyse entstandene Ammoniak wurde durch Zusatz von 9 g Calciumhydroxyd vertrieben, der Niederschlag mindestens 10 mal mit siedendem Wasser ausgewaschen, das Filtrat bis auf 10 ccm eingeengt und der Aminostickstoff nach van Slyke im 5-Minuten-Versuch bestimmt[1]).

Im Laufe von 7 Tagen verfügten wir über 76 solcher Dialysate von Serum Gravider und Serum mit Lungengewebe. Da die eine Hälfte des Dialysats zur Feststellung der Ninhydrinreaktion diente und nur die zweite in die Sammelflasche kam, so entsprechen diese 76 Dialysate 38 ccm Serum (38 ccm Serum für Serumdialysat und 38 ccm für Serumlungengewebedialysat), 100 ccm des eingeengten Serumdialysats enthielten 0,9 ccm Stickstoff (über Wasser bei 22° und 766 mm gemessen), entsprechend 0,51 mg Aminostickstoff. Das Serumlungengewebedialysat enthielt 1,2 ccm Stickstoff (bei derselben Temperatur und demselben Druck gemessen), entsprechend 0,68 mg Aminostickstoff.

Berechnen wir den Aminostickstoffgehalt auf 10 ccm des ursprünglichen Dialysats, d. h. auf das Volumen, mit dem die, in diesem Falle für beide Dialysate, negative Ninhydrinreaktion erhalten wurde, so finden wir für 10 ccm Serumdialysat den Wert 0,007 mg Aminostickstoff, für Serumlungengewebedialysat 0,009 mg Aminostickstoff.

In dem Aminostickstoffgehalt beider Dialysate wurde bei G-Serumlungengewebeversuch mehr Stickstoff als im G-Serumversuch (Kontrolle) konstatiert. Bei der Einwirkung des Serums Gravider auf Lungengewebe findet Abbau, aber ein schwächerer als auf Placenta, statt.

Versuche mit Seren Gravider und Carcinomeiweiß.

Die Ninhydrinreaktion fiel in allen 57 Versuchen negativ aus. Das eingeengte und hydrolysierte Serumdialysat enthielt 0,7 ccm Stickstoff (über Wasser bei 24° und 760 mm gemessen), entsprechend 0,39 mg Aminostickstoff. Das Serumcarcinom-

[1]) Die Reagenzienkorrektur ist in allen Versuchen der ersten und dieser Mitteilung in Abzug gebracht.

dialysat enthielt 1,4 ccm Stickstoff (in denselben Verhältnissen gemessen), entsprechend 0,78 mg Aminostickstoff.

Berechnen wir den Aminostickstoffgehalt auf 10 ccm des ursprünglichen Dialysats, so finden wir für Serumdialysat 0,007 mg, für Serumcarcinomdialysat 0,014 mg Aminostickstoff.

In dem Aminostickstoffgehalt beider Dialysate wurde beim G-Serumcarcinomversuch mehr Stickstoff als im G-Serumversuch (Kontrolle) konstatiert. Bei Einwirkung des Serums Gravider auf Carcinomeiweiß findet Abbau, aber schwächerer als auf Placenta, statt.

Versuche mit Seren Nephritiker und Placentaeiweiß.

Zu diesen Versuchen dienten ausnahmslos Sera von an Nephritis leidenden Männern, die alle beim Placentaversuch sehr stark mit Ninhydrin reagierten (+++).

Das eingeengte und hydrolysierte Serumdialysat von 65 Versuchen enthielt 1,4 ccm Stickstoff (über Wasser bei 23° und 758 mm gemessen), entsprechend 0,78 mg Aminostickstoff. Das Nephritisserum-Placentadialysat enthielt 2,3 ccm Stickstoff (in denselben Verhältnissen gemessen), entsprechend 1,29 mg Aminostickstoff.

Berechnen wir den Aminostickstoffgehalt auf 10 ccm des ursprünglichen Dialysats, so finden wir für Nephritisserumdialysat 0,012 mg, für Nephritisserum-Placentadialysat 0,020 mg Aminostickstoff.

In dem Aminostickstoffgehalt beider Dialysate wurde beim Nephritisserumplacentaversuch mehr Stickstoff als im Nephritisserumversuch (Kontrolle) konstatiert.

Bei Einwirkung des Serums Nephritiker auf Placentaeiweiß findet Abbau, aber schwächerer als bei Einwirkung des Serums Gravider, statt.

Versuche mit Seren progressiver Paralytiker und Gehirneiweiß[1]).

Die Ninhydrinreaktion fiel in allen 54 Versuchen positiv aus. Das eingeengte und hydrolysierte Serumdialysat enthielt

[1]) Diese und die nächstfolgende Analyse sind von Dr. Dora Pesker ausgeführt.

0,5 ccm Stickstoff (über Wasser bei 23° und 758 mm gemessen), entsprechend 0,28 mg Aminostickstoff. Das Serumgehirndialysat enthielt 1,5 ccm Stickstoff (in denselben Verhältnissen gemessen), entsprechend 0,84 mg Aminostickstoff.

Berechnen wir den Aminostickstoffgehalt auf 10 ccm des ursprünglichen Dialysats, so finden wir für Serumdialysat 0,005 mg, für Serumgehirndialysat 0,016 mg Aminostickstoff.

In dem Aminostickstoffgehalt beider Dialysate wurde beim Serumgehirnversuch mehr Stickstoff als im Serumversuch (Kontrolle) konstatiert. Bei Einwirkung des Serums progressiver Paralytiker auf Gehirneiweiß findet Abbau statt.

Versuche mit Seren Geisteskranker (funkt. Psychose) und Gehirneiweiß.

Die Ninhydrinreaktion fiel in allen 54 Versuchen negativ aus. Das eingeengte und hydrolysierte Serumdialysat enthielt 0,8 ccm Stickstoff (über Wasser bei 24° und 762 mm gemessen), entsprechend 0,45 mg Aminostickstoff.

Das Serumgehirndialysat enthielt auch 0,8 ccm Stickstoff, entsprechend 0,45 mg Aminostickstoff.

Berechnen wir den Aminostickstoffgehalt beider Dialysate (Serum und Serum + Gehirn) auf 10 ccm des ursprünglichen Dialysats, so finden wir für beide Versuche 0,008 mg Aminostickstoff.

In dem Aminostickstoffgehalt beider Dialysate (Serum und Serum + Gehirn) konnte also kein Unterschied festgestellt werden. Bei Einwirkung des Serums Geisteskranker (funkt. Psychose) auf Gehirneiweiß findet kein Abbau statt.

Versuche mit Seren Carcinomatöser und Carcinomeiweiß[1].

Diese Sera stammten alle von Carcinomatösen und teilweise von Carcinomverdächtigen und reagierten alle ausnahmslos negativ mit Ninhydrin.

Das eingeengte und hydrolysierte Serumdialysat von 86 Versuchen enthielt 1,3 ccm Stickstoff (über Wasser bei 24° und

[1]) Diese Analyse ist von Dr. A. Netschaeff ausgeführt.

762 mm gemessen), entsprechend 0,73 mg Aminostickstoff. Das Serumcarcinomdialysat enthielt 1,9 ccm Stickstoff (in denselben Verhältnissen gemessen), entsprechend 1,05 mg Aminostickstoff.

Berechnen wir den Aminostickstoffgehalt auf 10 ccm des ursprünglichen Dialysats, so finden wir für Serumdialysat 0,008 mg, für Serumcarcinomdialysat 0,012 mg Aminostickstoff.

In dem Aminostickstoffgehalt beider Dialysate wurde beim Serumcarcinomversuch mehr Stickstoff als im Serumversuch (Kontrolle) konstatiert. Bei Einwirkung des Serums Carcinomatöser auf Carcinomeiweiß findet Abbau statt.

Den Parallelismus zwischen dem Aminostickstoffgehalt der Dialysate und der Ninhydrinreaktion veranschaulicht folgende Tabelle (Berechnung auf 10 ccm des ursprünglichen Dialysats).

Versuch	Aminostickstoffgehalt mg	Ninhydrinreaktion	Bringen wir den Aminostickstoffgeh. d. Kontrollversuchs in Abzug, so finden wir den durch Serum abgebauten Aminostickstoff mg
Normal. Serum, Kontrolle	0,0075	—	0
„ „ + Placenta	0,0075	—	
Serum Gravider, Kontrolle	0,006	—	0,013
„ „ + Placenta	0,019	+	
Serum Gravider, Kontrolle	0,007	—	0,002
„ „ + Lunge	0,009	—	
Serum Gravider, Kontrolle	0,007	—	0,007
„ „ + Carcinom	0,014	—	
Serum Nephritiker, Kontrolle	0,012	—	0,008
„ „ + Placenta	0,020	+	
Serum progr. Palalyt., Kontrolle	0,005	—	0,011
„ „ „ + Gehirn	0,016	+	
Serum Geisteskr. (funkt. Psych.), Kontrolle	0,008	—	0
„ „ „ „ + Gehirn	0,008	—	
Serum Carcinomat., Kontrolle	0,008	—	0,004
„ „ + Carcinom	0,012	—	

Bei 16 Versuchen sehen wir die Ninhydrinreaktion nur 3 mal positiv ausfallen, und nämlich nur da, wo der Aminostickstoffgehalt 0,015 mg pro 10 ccm Dialysat übersteigt. Sollte die Ninhydrinreaktion in diesen Versuchen nur durch den Aminostickstoff bedingt sein, so müßte 0,016 mg Aminostick-

stoff die Ninhydrinempfindlichkeitsgrenze sein, da die Reaktion bei 0,014 mg Aminostickstoff negativ, bei 0,016 mg positiv ausfällt.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß bei stattgefundenem Abbau die Ninhydrinreaktion doch negativ ausfällt, wenn die Konzentration der Abbauprodukte die Empfindlichkeitsgrenze des Ninhydrins nicht erreicht.

Während unsere Kenntnisse über die postmortale Organautolyse genügend geklärt erscheinen, wissen wir verhältnismäßig noch sehr wenig, welche Rolle den autolytischen Prozessen im lebenden Organismus unter normalen und verschiedenen pathologischen Verhältnissen zugeschrieben werden kann.

Wir wollen hier nicht näher auf die anatomischen Befunde Schmorls von Placentarembolien in der Lunge und anderen Organen näher eingehen und erwähnen nur kurz, daß Hofbauer, Dryfuß, Dienst u. a. die Ansicht vertreten, daß aus der Placenta Fermente in die Blutbahn der Mutter gelangen.

Abderhalden war geneigt, den Leukocyten für die Produktion der Abwehrfermente eine wesentliche Rolle zuzuschreiben, und vermutete, daß als Ursprungsstätte von Abwehrfermenten des Blutes auch die Nieren in Betracht kommen. In der zweiten Auflage seines Buches „Abwehrfermente des tierischen Organismus“ hält er es für unwahrscheinlich, daß die betreffenden Zellen, die plasmafremdes Material abgeben, selbst die Fermente liefern und den weiteren Abbau ins Plasma hineinverlegen.

Von Guggenheimer[1]) wurde die interessante Beobachtung gemacht, daß Serum von Schwangeren die Autolyse von Placentargewebe deutlich fördert. Guggenheimer, nach dessen Auffassung die Annahme einer reaktiven Bildung spezifischer proteolytischer Serumfermente, bedingt durch vorherige Überschwemmung des Kreislaufs mit ungenügend abgebautem Eiweißmaterial, zu entbehren wäre, schreibt:

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1914, Nr. 2 und Deutsches Arch. f. klin. Med. 112.

„So mag vielleicht der von Abderhalden selbst bereits modifizierte Begriff der ‚Schutzfermente' in den umfassenden Begriff ‚Abwehrfermente' noch eine weitere Umwandlung in dem Sinne erfahren, daß der primäre Übertritt von Organenzymen in die Blutflüssigkeit zur Erklärung einer organspezifischen proteolytischen Serumwirkung herangezogen wird."

Außer Guggenheimer vertreten auch andere die Ansicht, daß das Auftreten der Abderhaldenschen Serumfermente nicht als eine Reaktion gegen blutfremde, in der Flüssigkeit kreisende Substanzen zustande kommt, was der Begriff „Abwehrfermente" besagen soll, sondern auf eine primäre Abgabe spezifischer Organfermente an die Blutflüssigkeit zurückzuführen ist.

Abderhalden[1]) nähert sich in der letzten Zeit auch diesem Standpunkt.

Wenn wir uns auf den Standpunkt stellen, daß die betreffenden Zellen, die plasmafremdes Material abgeben, selbst die Fermente liefern und den weiteren Abbau ins Plasma hineinverlegen und an das, von uns durch Aminostickstoffbestimmungen konstatierte, Vermögen des Serums Gravider, Placenta-, Carcinom- und Lungeneiweiß abzubauen, zurückdenken, so steht vor uns die Frage, ob diese Fermente aus der Placenta stammen können. Um diese Frage aufzuklären, untersuchten wir den Preßsaft der Placenta auf sein Vermögen, Placenta-, Carcinom- und Lungeneiweiß abzubauen, d. h. wir stellten uns die Frage, ob in die Blutbahn der Mutter gelangte Placentazellen die Fermente liefern können.

Bergell und Liepmann[2]) konnten durch Einwirkung von Placentarpreßsaft auf Peptonlösung die Abspaltung von Tyrosin bewirken, was Savarè[3]) bestätigte. Bergell nnd Falk[4]) wiesen nach, daß nach wiederholtem Auswaschen der Placenta das Ferment noch vorhanden war; es ist also intracellulär gebunden. Abderhalden konstatierte bei Einwirkung des Serums Gravider auf Placentapepton die Anwesenheit von Tyrosin.

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1918, Nr. 50 und IV. Auflage „Abwehrfermente".

[2]) Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 46.

[3]) Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 43.

[4]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 141.

Versuchsanordnung.

Zur Gewinnung von Placentarpreßsaft wurde die Placenta gleich nach der Geburt in eine sterile Lösung von 0,85% Natriumchlorid mit einem Zusatz von 1% Natriumcitrat aufgenommen und gleich mit dem Durchspülen durch die Blutgefäße mit derselben Lösung begonnen. Nach ca. 4 Stunden dauerndem Durchspülen bei öfters gewechselten Stellungen der Spülröhre[1]) wurde die Placenta zerschnitten, alle nicht genügend ausgewaschenen Teile verworfen, die fast weiß oder wenig gefärbt erscheinenden zwischen sterilem Filtrierpapier ausgepreßt, mit sterilem Sand in einem sterilen Mörser verrieben und der Preßsaft in der Buchnerpresse bei 200 Atmosphärendruck hergestellt. Bei gleichzeitiger Bearbeitung dreier Placenta erhielten wir ca. 100 ccm Preßsaft, der stark zentrifugiert wurde.

Die Versuchsanordnung, die von uns gewählt wurde, kann wohl mit gewissem Vorteil bei allen Autolyseversuchen angewandt werden, da die Abbauprodukte hier in die Außenflüssigkeit dialysieren und deshalb nicht hemmend auf den fermentativen Prozeß wirken. Außerdem ermöglicht diese Methode die quantitave Verfolgung der Autolyse zu verschiedener Zeit.

Die Dialysierhülsen (579 A) waren dieselben, die wir in unseren Serumversuchen geprüft hatten, und mußten nach diesen Versuchen mit Placentarpreßsaft verworfen werden, da sie beim Auswaschen doch schwach gefärbt blieben.

Gleich nach Herstellung des Placentarpreßsaftes wurde der Versuch in folgender Weise angestellt; die Organe waren dieselben, die zu unseren Serumversuchen dienten.

1. 10 Hülsen mit 2 ccm Placentarpreßsaft und 20 ccm sterilem Wasser als Außenflüssigkeit in den Erlenmeyer-Kolben.

2. 10 Hülsen mit 2 ccm Placentarpreßsaft und ca. 0,5 g Placentagewebe in jede Hülse und derselben Wassermenge als Außenflüssigkeit.

3. 10 Hülsen mit 2 ccm Placentarpreßsaft und ca. 0,5 g Lungengewebe in jede Hülse und derselben Wassermenge als Außenflüssigkeit.

4. 10 Hülsen mit 2 ccm Placentarpreßsaft und ca. 0,5 g

---

[1]) Zum Schluß wurde nur physiologische Lösung ohne Na-Citrat angewandt.

Carcinomgewebe in jede Hülse und derselben Wassermenge als Außenflüssigkeit.

5. 5 Hülsen mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung und ca. 0,5 g Placentagewebe in jede Hülse und derselben Wassermenge als Außenflüssigkeit.

6. 5 Hülsen mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung und ca. 0,5 g Lungengewebe in jede Hülse und derselben Wassermenge als Außenflüssigkeit.

7. 5 Hülsen mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung und ca. 0,5 g Carcinomgewebe in jede Hülse und derselben Wassermenge als Außenflüssigkeit.

Alle Hülsen sowie Außenflüssigkeiten wurden ohne Chloroformzusatz mit Toluol reichlich überschichtet und in einen Thermostaten bei 37° gestellt. Nach 24 Stunden wurden die vereinigten Außenflüssigkeiten einer jeden Versuchsreihe in Sammelflaschen gegossen, die Kolben mit sterilem Wasser nachgespült und als Außenflüssigkeit wieder 20 ccm frisches, steriles Wasser hinzugetan. Ein solcher Wechsel der Außenflüssigkeiten wurde vorgenommen:

1. Nach 24 Stunden (Analyse des 1. Tages).
2. „ weiteren 24 Stunden (Analyse des 2. Tages).
3. „ „ 48 „ „ „ 3. und 4. Tages).
4. „ „ 48 „ „ „ 5. „ 6. „

Nach Verlauf der 6 Tage wurde der vereinigte Hülseninhalt einer jeden Versuchsreihe in einen Meßkolben gegossen, die Hülsen gründlich mit sterilem Wasser nachgewaschen, 10 ccm kolloidale Eisenlösung (Kahlbaum) und 1 g $MgSO_4$ hinzugetan, der Kolben bis 150 ccm mit Wasser gefüllt und der Niederschlag abfiltriert. Diese wasserklare, eiweißfreie Flüssigkeit sowie alle Sammelflaschen der Außenflüssigkeiten kamen immmer gleich auf Eis.

In den vereinigten Dialysaten der Reihenfolge 5, 6 und 7, „Organkontrolle“ genannt, wurde nur der Gesamtstickstoff eines jeden Tages bestimmt.

Die vereinigten Dialysate der Reihenfolge 1, 2, 3 und 4 wurden bis 300 ccm mit Wasser angefüllt, in 60 ccm der Gesamtstickstoff und in 240 ccm nach Hydrolyse der Aminostickstoff bestimmt. Von der wasserklaren vereinigten eiweißfreien Flüssigkeit der Dialysierhülsen wurde in 20 ccm der Gesamtstickstoff und in 100 ccm nach Hydrolyse der Aminostickstoff bestimmt.

Zur Hydrolyse wurden die schon erwähnten 240 ccm der Außenflüssigkeiten im Vakuum bei 37° auf 100 ccm eingeengt, mit 3,5 ccm konz. Schwefelsäure versetzt und im Laufe von 1 1/2 Stunden im Autoklaven bei 175° erhitzt. Das durch Hydrolyse entstandene Ammoniak wurde durch Zusatz von 9 g Calciumhydroxyd vertrieben, der Niederschlag mindestens 10mal mit siedendem Wasser ausgewaschen, das Filtrat bis auf 10 ccm eingeengt und der Aminostickstoff nach van Slyke im 5-Minuten-Versuch bestimmt.

Die 5 nächstfolgenden Tabellen veranschaulichen den in den Außenflüssigkeiten verschiedener Tage bestimmten Gesamt- und Aminostickstoff.

Tabelle I.
Analyse des 1. Tages.

	Gesamt-stickstoff in 60 ccm mg	Amino-stickstoff in 240 ccm mg	Gesamt-stickstoff berechnet für den 1. Tag mg	Amino-stickstoff berechnet für den 1. Tag mg
Organkontrolle Placenta . .	—	—	0	—
Organkontrolle Lunge . . .	—	—	0	—
Organkontrolle Carcinom .	—	—	0	—
Preßsaft	1,4	0,73	7,0	0,91
" mit Placenta	3,4	2,90	17,0	3,63
" mit Lunge .	1,9	1,23	9,5	1,54
" mit Carcinom	1,4	0,73	7,0	0,91

Für Preßsaft waren es 1,3 ccm, mit Placenta 5,2 ccm, mit Lunge 2,2 ccm, mit Carcinom 1,3 ccm Stickstoff über Wasser bei 24° und 760 mm gemessen.

Tabelle II.
Analyse des 2. Tages.

	Gesamt-stickstoff in 60 ccm mg	Amino-stickstoff in 240 ccm mg	Gesamt-stickstoff berechnet für den 2. Tag mg	Amino-stickstoff berechnet für den 2. Tag mg
Organkontrolle Placenta . .	—	—	0	—
Organkontrolle Lunge . . .	—	—	0	—
Organkontrolle Carcinom .	—	—	0	—
Preßsaft	0,6	0,40	3,0	0,50
" mit Placenta	2,6	1,85	13,0	2,31
" mit Lunge .	1,1	0,68	5,5	0,85
" mit Carcinom	0,7	0,40	3,5	0,50

Für Preßsaft und Preßsaft mit Carcinom waren es 0,7 ccm, mit Placenta 3,4 ccm, mit Lunge 1,2 ccm Stickstoff über Wasser bei 25° und 766 mm gemessen.

Tabelle III.

Analyse des 3. und 4. Tages.

		Gesamt-stickstoff in 60 ccm mg	Amino-stickstoff in 240 ccm mg	Gesamt-stickstoff berechnet für den 3.—4. Tag mg	Amino-stickstoff berechnet für den 3.—4. Tag mg
Organ-kontrolle	Placenta . .	—	—	0,1 [1])	—
	Lunge . . .	—	—	0,1	—
	Carcinom .	—	—	0,1	—
Preßsaft		0,6	0,28	3,0	0,35
„ mit Placenta		2,0	1,85	10,0	2,31
„ mit Lunge .		1,0	0,68	5,0	0,85
„ mit Carcinom		0,6	0,28	3,0	0,35

Für Preßsaft und Preßsaft mit Carcinom waren es 0,5 ccm, mit Placenta 3,4 ccm, mit Lunge 1,2 ccm Stickstoff über Wasser bei 25° und 766 mm gemessen.

Tabelle IV.

Analyse des 5. und 6. Tages.

		Gesamt-stickstoff in 60 ccm mg	Amino-stickstoff in 240 ccm mg	Gesamt-stickstoff berechnet für den 5.—6. Tag mg	Amino-stickstoff berechnet für den 5.—6. Tag mg
Organ-kontrolle	Placenta . .	—	—	0,1 [2])	—
	Lunge . . .	—	—	0,1	—
	Carcinom .	—	—	0,1	—
Preßsaft		0,5	0,06	2,5	0,075
„ mit Placenta		1,4	0,84	7,0	1,05
„ mit Lunge .		0,9	0,28	4,5	0,35
„ mit Carcinom		0,5	0,06	2,5	0,075

Für Preßsaft und Preßsaft mit Carcinom waren es 0,1 ccm, mit Placenta 1,5 ccm, mit Lunge 0,5 ccm Stickstoff über Wasser bei 26° und 768 mm gemessen.

---

[1]) Da ein jeder Organkontrollversuch nur aus 5 Hülsen bestand und nur ungefähr die Hälfte der zu 10 Hülsenversuchen angewandten Organmenge enthielt, ist in unseren Schlußberechnungen die hier erhaltene, mit 2 multiplizierte N-Menge in Abzug gebracht.

[2]) Siehe Bemerkung Tabelle III.

Tabelle V.
Analyse des eiweißfreien Hülseninhalts.

	Gesamt-stickstoff in 20 ccm mg	Amino-stickstoff in 100 ccm mg	Gesamtstickstoff für den gesamten Hülseninhalt berechnet mg	Aminostickstoff für den gesamten Hülseninhalt berechnet mg
Organ-kontrolle Placenta	—	—	0	—
Organ-kontrolle Lunge	—	—	0	—
Organ-kontrolle Carcinom	—	—	0	—
Preßsaft	0,3	0	2,25	0
„ mit Placenta	0,8	0,33	3,75	0,50
„ mit Lunge	0,3	0,06	2,25	0,09
„ mit Carcinom	0,3	0	2,25	0

Für Preßsaft mit Placenta waren es 0,6 ccm Stickstoff, mit Lunge 0,1 ccm bei 26° und 768 mm über Wasser gemessen.

Tabelle VI veranschaulicht den im Laufe der ganzen Versuchszeit in Lösung gegangenen Gesamt- und Aminostickstoff einer jeden Versuchsreihe.

Tabelle VI.

	Gesamt-stickstoff mg	Amino-stickstoff mg
Organ-kontrolle Placenta	0,4 [1])	—
Organ-kontrolle Lunge	0,4	—
Organ-kontrolle Carcinom	0,4	—
Preßsaft	17,75	1,84
„ mit Placenta	50,75	9,80
„ mit Lunge	26,75	3,65
„ mit Carcinom	18,25	1,84

Bringen wir den bei Organkontrollen in Lösung gegangenen Stickstoff sowie den Gesamt- und Aminostickstoff des Preßsaftversuchs in Abzug, so erhalten wir den unter Einwirkung des Placentarpreßsaftes abgebauten Gesamt- und Aminostickstoff für den von uns angestellten Versuch.

[1]) Siehe Bemerkung Tabelle III. 0,4 ist der mit 2 multiplizierte Wert.

Gesamt- und Aminostickstoff in mg durch Placentarpreßsaft abgebaut aus:

	Gesamt-N	Amino-N
Placentagewebe	34,60	7,96
Lungengewebe	8,60	1,81
Carcinomgewebe . . .	0,10	0

Wie aus dieser Tabelle zu ersehen ist, wird Placenta und Lungengewebe durch Placentarpreßsaft abgebaut, Carcinomgewebe dagegen nicht.

Durch Aminostickstoffbestimmungen konstatierten wir, daß das Serum Gravider außer Placentagewebe auch Carcinom- und Lungengewebe abbaut. Vergleichen wir das Abbauvermögen des Serums Gravider Placenta- und Lungengewebe gegenüber mit diesem Vermögen des Placentarpreßsaftes, so finden wir das Verhältnis sehr ähnlich, d. h. Lungengewebe wird vom Serum Gravider und Placentarpreßsaft ungefähr in demselben Verhältnis schwächer als Placenta abgebaut. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß die während der Schwangerschaft in die Blutbahn der Mutter gelangten Placentazellen die Fermente, die den Abbau von Placenta- und Lungengewebe bewirken, liefern. Es sind weitere Versuche im Gange, die aufklären sollen, wie das Serum normaler Menschen sich zu Lungen- und Carcinomgewebe verhält und wie das Abbauvermögen des Serums Gravider Carcinomeiweiß gegenüber erklärt werden könnte, und wie Lungenpreßsaft sich Placenta gegenüber verhält.

Schlußfolgerungen.

Placentaeiweiß wird vom Serum normaler Menschen nicht abgebaut.

Placenta-, Carcinom- und Lungeneiweiß werden vom Serum Gravider abgebaut.

Placentaeiweiß wird vom Serum Nephritiker abgebaut.

Gehirneiweiß wird vom Serum progressiver Paralytiker abgebaut.

Gehirneiweiß wird vom Serum Geisteskranker (funkt. Psychose) nicht abgebaut.

Carcinomeiweiß wird vom Serum Carcinomatöser abgebaut.

Trotz stattgefundenen Abbaus fällt die Ninhydrinreaktion doch negativ aus, wenn die Konzentration der Abbauprodukte die Ninhydrinempfindlichkeitsgrenze nicht erreicht.

Wenn die positive Ninhydrinreaktion in diesen Versuchen nur durch den Aminostickstoffgehalt der Dialysate bedingt wird, so muß 0,015 bis 0,016 mg Aminostickstoff als Ninhydrinempfindlichkeitsgrenze anerkannt werden.

Placenta- und Lungeneiweiß werden vom Placentarpreßsaft abgebaut, Carcinomeiweiß dagegen nicht.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß bei Schwangerschaft in die Blutbahn der Mutter gelangte Placentazellen die Fermente, die den Abbau von Placenta- und Lungeneiweiß bewirken, mit sich bringen, so daß es sich also nicht um Abwehrfermente im Sinne Abderhaldens handeln würde.

Wir wollen ganz besonders betonen, daß alle erhaltenen Ausschläge sehr klein sind und ihre Gewinnung in jedem einzelnen Falle gewissermaßen eine wissenschaftliche Arbeit für sich ist, so daß wir es im gegebenen Falle ablehnen würden dem Kliniker unser Resultat zur praktischen Verwertung zu übergeben; insbesondere bringen wir den in unserer ersten Mitteilung erhobenen Befund in Erinnerung, daß wir mit der optischen Methode Abderhaldens, die er für die beste und gewissermaßen für die „Standardmethode“ hält, überhaupt keinen Unterschied zwischen Seren Normaler und Gravider gegenüber Placentapepton konstatieren konnten.

Beobachtungen über das Co-Enzym der Hefe.

Von

Sidney Hagman.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Universität Stockholm.)

(Eingegangen am 28. Februar 1916.)

Mit 2 Figuren im Text.

Harden und Young[1]) haben gefunden, daß für das Zustandekommen der alkoholischen Gärung der Preßsaft außer der eigentlichen Zymase auch einen kochbeständigen dialysierbaren Stoff, das Co-Enzym, enthalten muß. Dieses Co-Enzym ist dann auch von Buchner und Klatte[2]) untersucht. Aus verschiedenen Gründen vermuten sie, es sei ein Phosphorsäureester. Buchner und Haehn[3]) haben später nochmals auf die große Bedeutung hingewiesen, die das Co-Enzym und die neben ihm vorkommende und von ihm schwer trennbare Antiprotease als Regulatoren der Gärung und der Verdauung und damit auch des ganzen Lebens der Hefe haben müssen. Nachdem Euler und Johansson[4]) die große Wichtigkeit gezeigt haben, die eine Untersuchung von der bei der Gärung auftretenden Differenz $\varDelta - C$ zwischen der prozentischen Drehungsabnahme und der entwickelten Kohlensäure für die Deutung des Gärungsprozesses haben kann, haben Euler und Berggren[5]) einige Versuche angestellt, um die Frage zu beleuchten, bei welchem Teil des Prozesses oder bei welchem der an der Gärung beteiligten Enzyme die Mitwirkung des Co-Enzyms erforderlich ist. Ihre Co-Enzympräparate erhielten sie aus bei Zimmertem-

---

[1]) Proc. Roy. Soc. 77, 405, 1906.
[2]) Diese Zeitschr. 8, 523, 1908.
[3]) Diese Zeitschr. 26, 171, 1910.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 76, 347, 1912.
[5]) Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 203, 1913.

peratur getrockneter Hefe durch Extrahieren mit Wasser. Sie arbeiteten zum Teil mit frischer, zum Teil auch mit ausgewaschener Co-enzymfreier Hefe. Aus ihren Versuchen scheint hervorzugehen, daß das Hefeextrakt zwei Co-Enzyme enthält, von welchen jedes sein Teil der schematisch aufgestellten Reaktion:

Glucose ⟶ Umwandlungsprodukt,

Umwandlungsprodukt ⟶ $CO_2 + C_2H_5OH$

beschleunigt. Sie betonen jedoch, daß die Beobachtungen der weiteren Untersuchung bedürfen.

Auf Vorschlag des Professors H. von Euler und unter seiner Leitung sind in der vorliegenden Arbeit einige Beobachtungen gemacht über die Natur und Wirkungsweise des Co-Enzyms.

Versuchsbedingungen.

Die Versuchstemperatur betrug, wo nicht andere Angaben gemacht sind, 30° und wurde mit einem gewöhnlichen Ostwaldschen Termostaten auf $\pm 0{,}3°$ konstant gehalten.

Die Lösungen wurden vor dem Eintritt der Gärung mit CO_2 gesättigt. Die Messungen der entwickelten Kohlensäure geschahen volumetrisch. Vor den Ablesungen wurden die Kölbchen kräftig geschüttelt, um die Übersättigung aufzuheben.

Die Messung des Drehungsvermögens geschah meist in einer 5-cm-Röhre und im scharfen Licht der Quecksilberlampe. Die Lösungen waren bräunlich.

Die angewandte Hefe war die Hefe H aus der hiesigen St. Eriksbrauerei.

Versuche.

Herstellen der Präparate.

Bei den Versuchen wurden Hefepräparate verwendet, die an und für sich gegen Zuckerlösungen inaktiv gemacht worden waren. Sie wurden hergestellt durch Auswaschen mit Wasser von in der Luft bei Zimmertemperatur getrockneter Hefe. Das Auswaschen wurde in Trichtern vorgenommen. Darauf wurde die Hefe so lange auf Ton gerieben, bis sie pulverförmig war.

Die Co-Enzympräparate wurden dermaßen hergestellt, daß luftgetrocknete Hefe mit dem fünffachen ihrer Menge Wasser bei 30° 4 Stunden ausgelaugt wurde. Darauf wurde filtriert, am besten durch eine große Anzahl von Faltenfiltern, und das Filtrat schnell auf 80° erhitzt, um das Eiweiß zu fällen. Nach dem Fil-

trieren wurde im Vakuum bei 50° (das Co-Enzym ist, wie Buchner und Haehn[1]) gezeigt haben, wohl für kurze Zeit kochbeständig, wird aber beim längeren Kochen mit Rückflußkühler verdorben) eingeengt. Das geschah am besten im erhitzbaren Vakuumexsiccator, wegen der großen Neigung der Flüssigkeit zu schäumen. Als sie etwas eingedickt war, wurde sie mit ungefähr der vierfachen Menge Alkohol (95 %) gefällt. Die ölige Fällung wurde mit absolutem Alkohol und darauf mit Äther behandelt bis sie trocken war. Sie war dann etwas gelblich, sehr hygroskopisch und von sandiger Konsistenz.

Das Co-Enzympräparat wurde auf Phosphorsäure analysiert, teils direkt durch Fällung mit Mg-Mixtur und NH_3 und teils nach Verbrennung mit konz. HNO_3. Die erste Analyse gab als Resultat 15,5 %, die zweite 19,6 % P_2O_5. Die Fällung, die als Fällung I bezeichnet wird, enthielt folglich 4,1 % organisch gebundenes P_2O_5.

Sie enthielt nicht: Ca, K (spektroskopische Prüfung). Mit NH_3 gab sie eine Fällung, schneller beim Versetzen mit Na-Phosphat. Sie enthielt also Mg, jedoch in geringer Menge.

Fällung I wurde vielmals neu bereitet. Ihre Zusammensetzung wechselte jedesmal etwas, und auch ihr Vermögen, mit dem obengenannten Hefepräparat Gärung von Glucose hervorzurufen, wechselte etwas, wie weiter unten ersichtlich wird.

0,5 g der analysierten Fällung rief mit 0,5 g ausgewaschener Hefe, 2 g Glucose, 20 ccm Wasser, 0,1 ccm Toluol eine CO_2-Entwicklung von 43,5 ccm während 6 Stunden hervor. — Es muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß die Fällung nicht nur das Co-Enzym, sondern auch die Antiprotease von Buchner und Haehn enthalten muß.

Die ausgewaschene Hefe rief ohne Zusatz von Fällung I so gut wie keine Kohlensäureentwicklung (0,5 bis 3 ccm) hervor, auch nicht in Gegenwart anorganischen Phosphats. — Hefe und Fällung wurden im Exsiccator aufbewahrt. Sie waren noch nach 4 Monaten gärkräftig.

Versuche über das Verhalten von Heferückstand und Fällung gegen Zucker.

Es ließ sich nun denken, daß die ausgewaschene, Co-enzymfreie, aber noch zymasehaltige Hefe die Gärungsreaktion einzuleiten vermöchte, was man im Polarimeter verfolgen könnte.

[1]) l. c.

Dies erwies sich nicht zutreffend. Viele Versuche wurden gemacht unter verschiedenen Temperatur- und Konzentrationsbedingungen und auch in der Gegenwart anorganischen Phosphats; das Resultat war stets negativ.

Auch mit der Fällung I wurden solche Versuche mit negativem Resultate gemacht.

Weder die ausgewaschene Hefe, noch das Co-Enzympräparat können also im Polarimeter oder durch Gasentwicklung polarimetrisch oder gasometrisch erkennbare Veränderungen von reiner Glucose hervorrufen. — Auch kann, wie Harden und Young[1]) schon bezüglich Gärung mit Hefepreßsaft gezeigt haben, das Phosphat das Co-Enzym nicht ersetzen.

Versuche über die Differenz $\Delta - C$.

Zunächst wurde die gleichzeitige Einwirkung vom Hefepräparat und Fällung I auf Glucose untersucht. — Je 20 ccm einer 10%igen Glucoselösung wurden mit 0,5 g Fällung I versetzt und das Drehungsvermögen untersucht. Dann wurden 0,5 g gewaschene Hefe zugesetzt und Gärungsversuche angestellt. Nach gewissen Zeiten wurde abgebrochen und nach Filtrieren wieder das Drehungsvermögen untersucht. Die Lösung von 0,5 g Fällung I in 20 ccm Wasser besaß ein Drehungsvermögen von — 0,04°, die wirkliche Drehung des Zuckers war also 0,04° höher als in der Tabelle I, was beim Berechnen der theoretisch

Tabelle I.

Stunden	CO_2 ccm	%	Drehungsrückgang	%	$\Delta - C$
3	48,5	10,0	2° 34 bis 2° 19	6,4	— 3,6
4	55,0	11,4	2° 34 „ 2° 19	6,4	— 5,0
6	68,5	14,1	2° 34 „ 2° 18	6,8	— 7,3

Druck 751 mm, Lufttemperatur 19,5°.

möglichen Menge CO_2 zu berücksichtigen ist. — Es ist auffallend, daß $\Delta - C$ negativ wird, d. h. daß mehr CO_2 entwickelt wurde, als der beobachteten Drehungsänderung entsprach. — Es sei daran erinnert, daß der kleine Fehler, der davon kommt, daß während des Filtrierens der Gärflüssigkeit eine CO_2-Entwicklung stattfindet, die nicht gemessen wird, die Differenz

[1]) l. c.

$\Delta - C$ in **positiver** Richtung verschieben sollte. — Der Versuch wurde zweimal mit verschiedenen Co-Enzym- und Hefepräparaten gemacht. Das zweite Mal fiel der Wert von $\Delta - C$ nicht so groß aus (— 0,01, — 2,1, — 4,1); die CO_2-Entwicklung war auch schwächer (52 ccm nach 6 Stunden). In beiden Versuchen wird aber die Negativität der Differenz $\Delta - C$ mit der Zeit gesteigert.

Es wurde dann die relative Menge des Co-Enzympräparates variiert. Die drei Versuche Tabelle II wurden mit je 0,25, 0,5 und 0,75 g Fällung I auf 20 ccm Glucoselösung und 0,5 g ausgewaschene Hefe gemacht. Wir bemerken hier, daß die CO_2-Entwicklung beinahe proportional der anwesenden Menge der

Tabelle II.

Fällung I	Kubikzentimeter CO_2 nach Stunden					%	Drehungsrückgang	%	$\Delta - C$
g	1	2	3	4	6				
0,25	10,5	17,0	20,5	23,0	26,0	5,3	2° 36 bis 2° 28	3,4	— 1,9
0,5	20,0	35,0	43,0	50,5	62,5	12,7	2° 34 „ 2° 14	8,5	— 4,2
0,75	22,0	50,0	64,0	74,0	92,5	17,8	2° 32 „ 2° 02	12,9	— 4,9

Lufttemperatur 19,5°, Druck 751 mm.

Fällung I ist. Bezüglich der Abhängigkeit zwischen den Mengen der entwickelten CO_2 und des anwesenden Co-Enzyms muß man im Auge behalten, daß, wenn die Menge des Kochsafts oder der Fällung variiert wird, nicht nur die Konzentration des Co-Enzyms, sondern auch die des Phosphates verändert wird. Die folgenden Beobachtungen zeigen, daß zwischen diesen Substanzen unterschieden werden muß.

Auch beobachtet man, daß die Negativität der Differenz mit der Menge der Fällung I wächst. Das kann aber lediglich erklärt werden durch das Steigen der Konzentration des Phosphates. Die Versuche Tabelle II enthalten je 0,065, 0,13 und 0,195 g, berechnet als NaH_2PO_4. Nimmt man die Phosphatmenge als Abszisse und $\Delta - C$ als Ordinate, so erhält man eine Kurve (die gestrichelte, Fig. 1), die beinahe parallel mit der verläuft, die den Zusammenhang zwischen Phosphat und $\Delta - C$ (Tabelle IV) veranschaulicht.

Als ich bei konstant gehaltener Fällungsmenge (0,5 g) die Hefemenge variierte, wurden ähnliche Resultate erhalten (Tabelle III). Die CO_2-Entwicklung, und die Negativität von $\Delta - C$

Tabelle III.

Hefemenge g	Kubikzentimeter CO_2 nach Stunden					°/₀	Drehungsrückgang	°/₀	$\Delta - C$
	1	2	3	4	6				
0,05	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	—	2° 34 bis 2° 35	—	—
0,15	2,0	5,5	11,0	16,0	22,5	4,6	2° 34 „ 2° 23	4,7	+ 0,1
0,25	5,5	16,0	22,0	26,0	31,0	6,4	2° 34 „ 2° 25	3,8	— 2,6
0,5	17,5	27,5	33,0	38,0	46,0	9,5	2° 34 „ 2° 23	4,7	— 4,8
0,75	25,0	37,0	45,5	54,0	67,5	13,5	2° 34 „ 2° 20	6,0	— 7,6

Lufttemperatur 19°, Druck 763 mm.

wurden mit steigender Hefemenge verstärkt. Jeder Versuch wurde mit 20 ccm einer 10°/₀igen Glucoselösung gemacht.

Die Versuche Tabelle IV sind ausgeführt mit konstanten Mengen der Fällung I (0,5 g) und der Hefe (0,5 g), aber mit wechselnden Mengen Phosphat. Das angewandte Phosphat war NaH_2PO_4, das vor den Versuchen mit NaOH genau neutralisiert wurde (Indicator: Lackmus). Fällung I enthält anorganisches Phosphat, welches den Mengen 0,5 g, 0,13 g NaH_2PO_4 entspricht;

Tabelle IV.

Na-Phosphat g	Kubikzentimeter CO_2 nach Stunden				°/₀	Drehungsrückgang	°/₀	$\Delta - C$
	1	2	3	4				
—	17,5	28,0	33,0	38,5	7,6	2° 41 bis 2° 34	2,9	— 4,7
0,2	14,5	38,0	51,0	57,5	11,4	2° 39 „ 2° 24	6,3	— 5,1
0,4	11,0	31,0	56,0	72,0	14,2	2° 40 „ 2° 11	12,1	— 2,1
0,6	5,0	13,0	32,0	59,0	11,8	2° 38 „ 2° 11	11,3	— 0,5
0,8	3,0	6,0	14,0	27,0	5,5	2° 33 „ 2° 15	7,7	+ 2,2
1,0	2,5	4,0	8,0	14,0	3,1	2° 37 „ 2° 25	5,1	+ 2,0

Lufttemperatur 18°, Druck 762 mm.

dies ist also zu der zugesetzten Menge (siehe die erste Spalte Tabelle IV) zuzulegen. — Wir sehen, daß größere Mengen anorganischen Phosphats eine beträchtliche Verzögerung und Schwächung der CO_2-Entwicklung hervorrufen. War die Phosphatmenge jedoch nicht gar zu groß (0,4 g), so wurde die Gärung zwar verzögert, aber verlief dann um so kräftiger. Ähnliche

Tatsachen haben Harden und Young gefunden[1]) und studiert[2]). Später haben auch Euler und Johansson[3]) diese offenbar für das Verständnis des Mechanismus der alkoholischen Gärung wichtige Erscheinung studiert.

Bezüglich $\Delta - C$ sieht man, daß bei Gegenwart von großen Mengen Phosphates die Differenz wieder positiv wird. Zwar wird der numerische Wert nicht völlig so groß wie bei der Gärung mit frischer Hefe (siehe Euler und Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem. 76, 347, 1912; Euler und Berggren, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 203, 1913; Euler und Hille, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 3, 1913), wo sie um 8 beträgt.

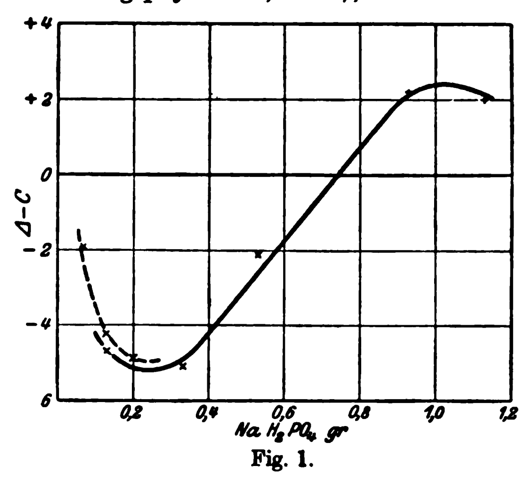


Fig. 1.

Die ausgezogene Kurve Fig. 1 illustriert den Zusammenhang zwischen Phosphat und $\Delta - C$. Die Phosphatmengen stehen auf der Abszisse und die beobachteten Differenzen auf der Ordinate. — $\Delta - C$ scheint also positiv zu werden, wenn die anwesende Menge des Phosphates groß ist im Verhältnis zu der Menge der Hefe. Dies trifft auch zu für den Versuch mit 0,15 g Hefe, 0,5 g Fällung I (Tabelle III).

Auch für diese Versuche muß noch festgestellt werden, wieviel von der Differenz $\Delta - C$ auf Rechnung eines enzymatischen Glykogenumsatzes zu schieben ist.

1) Proc. Roy. Soc. 80, 299, 1908.
2) Proc. Roy. Soc. 81, 336, 1909.
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. 85, 192, 1913.

Die Versuche in der Tabelle V sind mit je 20 ccm einer 5 %igen Lösung von Fällung I ohne Zucker gemacht. Die Zahlen zeigen, daß weder CO_2-Entwicklung noch Bildung von

Tabelle V.

Ausgewaschene Hefe	Kubikzentimeter CO_2 nach 6 Stunden	Drehungsänderung
0,5 g	4,0	— 0° 07 bis — 0° 04
0,75 g	4,5	— 0° 07 „ — 0° 05

rechtsdrehenden Stoffen aus der Hefe selbst oder dem Co-Enzympräparat die Ursache der Negativität der Differenz $\varDelta$ — C sein kann.

Daß keine solche Selbstgärung hier statt hat, wie unter anderen Euler und Johansson[1]) gefunden haben, wird dadurch erklärt, daß beim Auslaugen der Hefe eine kräftige Gärung eintritt.

Auch beim Zerstören des Co-Enzyms durch 4 stündiges Erhitzen in zugeschmolzenen Röhren im Autoklaven bis 130°

Tabelle VI.

Drehung	
vor Erhitzen	nach Erhitzen
— 0° 07	— 0° 06
— 0° 07	— 0° 04

wurde das Drehungsvermögen nicht geändert (Tabelle VI). — Die beobachteten Änderungen liegen bei diesen konzentrierten Lösungen wegen ihrer starken Farbe ganz innerhalb des Versuchsfehlers. Die Lösung war nach dem Erhitzen völlig außerstande, mit ausgewaschener Hefe Zucker zu vergären.

Zur Erklärung der beobachteten Negativität der Differenz $\varDelta$ — C bleiben die Annahmen übrig, entweder daß aus dem Zucker ein stark rechtsdrehender Stoff gebildet wird — die Art dieses Stoffes bedarf der weiteren Untersuchung — oder daß CO_2 nicht nur aus dem verschwindenden Zucker, sondern auch noch aus einem Reservestoff oder Zwischenprodukt gebildet wird.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 85, 205, 1913.

Versuche mit phosphatfreien Co-Enzympräparaten.

Harden und Young haben die Abhängigkeit der alkoholischen Gärung vom anorganischen Phosphat folgendermaßen ausgedrückt:

$$2\,C_6H_{12}O_6 + 2\,PO_4HR_2 = 2\,CO_2 + 2\,C_2H_5\,OH + C_6H_{10}O_4(PO_4R_2)_2 + 2\,H_2O$$

$$C_6H_{10}O_4(PO_4R_2)_2 + 2\,H_2O = C_6H_{12}O_6 + 2\,PO_4HR_2.$$

Diese Gleichung ist durch viele Untersuchungen in ziemlich weitem Umfange bestätigt worden. Unter anderen haben Euler und Johansson sich damit beschäftigt. Für das Verständnis der Rolle des Phosphates und des Co-Enzyms wäre es nun wichtig, völlig phosphatfreie Co-Enzympräparate zu erhalten. Harden und Young haben auch Versuche gemacht[1]), aus dem Kochsaft die Phosphate abzutrennen.

In dieser Arbeit ist es versucht worden, aus der genannten Fällung I die Phosphate auszufällen. Es entstanden hier Schwierigkeiten, denn durch alkalische Lösungen scheint das Co-Enzym verdorben zu werden. Mit solchen Fällungsmitteln erhaltene Präparate waren nämlich völlig unwirksam. Schließlich wurde auf folgende Weise eine phosphatfreie Fällung, die als Fällung II bezeichnet wird, erhalten. 15 g der Fällung I wurden in 75 ccm Wasser gelöst. Dann wurde vorsichtig mit $BaCl_2$ und so viel $Ba(OH)_2$, daß die Flüssigkeit eben neutral reagierte, gefällt. Das Phosphat wurde abfiltriert und im Filtrat Ba mit $(NH_4)_2SO_4$ gefällt. Das Filtrat nach der Ba-Fällung wurde fraktionsweise mit Alkohol gefällt. Die erste Fraktion, mit der doppelten Menge Alkohol, bestand fast ausschließlich aus $(NH_4)_2SO_4$. Die zweite ölige Fällung, nach Einengen im Vakuumexsiccator und Fällung mit der 5fachen Menge Alkohol erhalten, wurde mit absolutem Alkohol und Äther getrocknet und gewaschen. Sie enthielt ein wenig $(NH_4)_2SO_4$, war aber völlig frei von mit Mg-Mixtur und NH_3 fällbarem Phosphat.

Um ihren Gehalt an organischen P_2O_5 zu untersuchen, wurde sie durch Abrauchen mit HNO_3 verbrannt und dann mit Mg-Mixtur und NH_3 gefällt. Das Resultat war 4,8 % P_2O_5. Die Fällung I, die als Ausgangsmaterial diente, enthielt 4,1 % organisch gebundenes P_2O_5.

[1]) Proc. Roy. Soc. 82, 321, 1910.

Eine nahezu phosphatfreie Fällung wurde auch erhalten, indem als Ausgangsmaterial Hefeextrakt direkt angewandt wurde. Wegen des größeren Volumens waren die Fällungen jedoch schwieriger auszuführen. Das erhaltene Präparat (Fällung IIa) war auch weniger wirksam als die Fällung II. Eine Stickstoffanalyse nach Kjeldahl für die Fällung IIa gab 9,4 % N.

Die Versuche (Tabelle VII) wurden ausgeführt mit:

I 20 ccm 10%ige Glucoselösung, 0,5 g ausgewaschene Hefe,
II desgl. + 0,25 g NaH_2PO_4;
III „ + 0,5 „ Fällung I;
IV „ + 0,75 „ „ IIa;
V „ + 0,75 „ „ „ + 0,25 g NaH_2PO_4;
VI „ + 0,5 „ „ „ + 0,25 g „ + 0,1 ccm Toluol;
VII „ + 0,5 „ „ II + 0,1 ccm Toluol;
VIII „ + 0,25 „ „ II + 0,1 „ „ + 0,25 g NaH_2PO_4;
IX „ + 0,5 „ „ II + 0,1 „ „ + 0,25 g NaH_2PO_4.

Tabelle VII.

Minuten	Kubikzentimeter Kohlensäure								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
60	0,5	2	14,5	1	0,5	2,5	1,5	3	4,5
120	0,5	2,5	26	1,5	3	3,5	1,5	4	9
180	0,5	2,5	32	3	6	5	1,5	8,5	15,5
210	0,5	—	—	2,5	7,5	7	1,5	9	18,5
300	0,5	2,5	39,5	—	—	—	1,5	9	31,5
360	0,5	2,5	43,5	—	—	11	1,5	9	—
480	—	—	—	—	—	14	—	9	50,5
540	—	—	—	—	—	—	—	—	53

Das NaH_2PO_4 wurde vor den Versuchen mit NaOH neutralisiert (Indicator: Lackmus). Es geht aus der Tabelle deutlich hervor, daß drei Komponenten nötig sind, um eine Vergärung von der Glucose hervorzurufen, nämlich ausgewaschene Hefe, phosphorfreie Fällung und anorganisches Phosphat. Die Hefe kann (IV, VII) mit nur Fällung (Co-Enzym) oder nur Phosphat (II) keine CO_2-Entwicklung hervorbringen, beide müssen zusammen mit ihr zugegen sein. Es stimmt dies mit den Versuchen von Euler und Berggren[1]) überein. Diese konnten nämlich durch fraktionierte Fällung mit Alkohol das

[1]) Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 203, 1913.

Hefeextrakt in zwei Fraktionen teilen, von denen keine an und für sich ausgewaschene Hefe aktivieren konnte. Es zeigte sich auch während dieser Arbeit, daß das Phosphat bei der Fällung des Extraktes mit Alkohol sich immer in den ersten Fraktionen anhäufte. Eine vollständige Trennung gelang jedoch auf diese Weise nicht.

Die Fällung II (IX) wirkte bedeutend kräftiger als die Fällung IIa (VI). Auch scheint die entwickelte Kohlensäure von der anwesenden Co-Enzymmenge abhängig zu sein (VIII, IX). Beim Vergleich der Versuche III und IX (siehe die

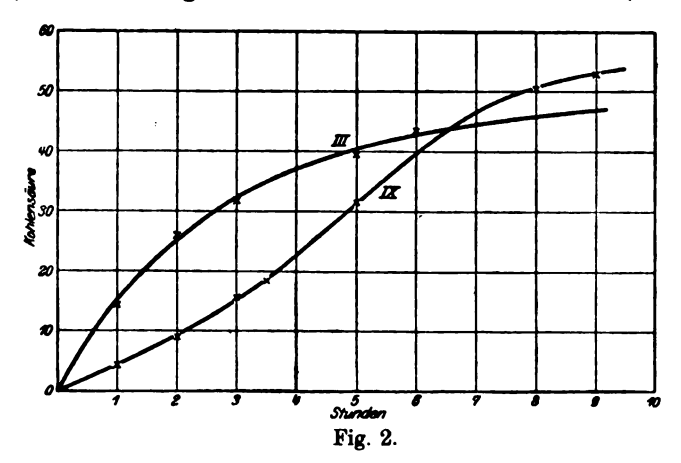


Fig. 2.

Kurvenzeichnungen Figur 2, wo die Zeit auf der Abszisse steht und die Kohlensäure auf der Ordinate) bemerkt man, daß in dem letzteren die CO_2-Entwicklung im Anfang viel langsamer geht. Offenbar hängt dies mit der verzögernden Wirkung des Phosphates zusammen. Die anwesende Menge des Phosphates entspricht ja im Versuch III nur 0,13 g NaH_2PO_4, während im Versuch IX 0,25 g zugesetzt waren.

Versuche mit Na-Lactat, Acetaldehyd und Ameisensäure.

Nachdem es sich gezeigt hatte, daß die ausgewaschene Hefe allein keinen wahrnehmbaren Einfluß auf den Zucker ausübt, also den Prozeß nicht einleiten konnte, wurden einige Versuche darüber gemacht, ob sie nicht am Ende des Gärungsvorganges selbständig wirken konnte. Um dies zu beurteilen,

wurde ihr Verhalten gegen einige von den Substanzen, die als Zwischenprodukte bei der alkoholischen Gärung in Frage kommen können, untersucht. Es erwies sich hier etwas schwierig, einwandfreie Resultate zu erhalten. Doch führe ich einige Versuche an, die vielleicht zeigen können, in welcher Richtung die endgültigen Resultate zu suchen sind.

Es wurden zuerst einige Versuche mit Milchsäure in Form einer 5%igen Na-Lactatlösung gemacht. Ihre Bildung als Zwischenprodukt ist ja vielfach bestritten worden, und nach den Arbeiten von Slator[1]) und Buchner und Meisenheimer[2]) ist wohl diese Theorie in ihrer ursprünglichen Form verlassen. Doch könnte beim Zerfallen des Zuckers in Brenztraubensäure nach Neuberg und Kerb[3]) möglicherweise eine intermediäre Bildung von Milchsäure angenommen werden.

Die Versuche gaben ausschließlich negative Resultate. Obgleich die Hefe zusammen mit Fällung I Zucker zu vergären vermochte, konnte sie weder allein noch mit Fällung eine einwandfrei wahrnehmbare CO_2-Entwicklung aus der Na-Lactatlösung hervorrufen.

Es wurde nun zu Versuchen mit Acetaldehyd und Ameisensäure übergegangen. Nach dem Schema von Schade[4]) würden diese Körper bei der Gärung auftreten. Auch haben Franzen und Steppuhn[5]) dem Auftreten und der Vergärung von Ameisensäure eine ausführliche Untersuchung gewidmet. Neuberg und Kerb[6]) und Kostytschew[7]) haben für den Acetaldehyd die Natur eines Zwischenproduktes dargetan.

In dieser Arbeit wurden zuerst Versuche mit freiem Acetaldehyd gemacht. Es erwies sich aber, daß dieser die Gärung völlig verhinderte. Auch wenn die Lösung außer Ameisensäure und Acetaldehyd Glucose enthielt, kam keine CO_2-Entwicklung zustande.

---

[1]) Journ. Chem. Soc. **89**, 141, 1906.

[2]) Landwirtschaftl. Jahrb. **38**, 265, 1909. — Chem. Ber. **43**, 1773, 1910. Vgl. auch Euler, Fortschritte der naturwissenschaftlichen Forschung **10**, **63**, 1914.

[3]) Diese Zeitschr. **43**, 494, 1912.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 1, 1906. Vgl. auch Euler, l. c.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **97**, 129, 1912.

[6]) l. c.; Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, **114**, 1913.

[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**, **130**, 1912.

Es wurde dann eine Lösung angewandt, die in bezug auf Ameisensäure $^{n}/_{20}$, Na-Formiat $^{n}/_{20}$ und Aldehydammoniak $^{n}/_{20}$ war.

Versuche. (Tabelle VIII.)

I 30 ccm Lösung, 0,5 g gewaschene Hefe, 0,5 g Fällung I, 1,5 g Glucose;
II 30 ccm Lösung, 0,5 g gewaschene Hefe;
III 60 " " 1,5 " " "
IV 60 " " 1,5 " " "
V 60 " " 1,25 " " "
VI 30 " " 0,5 " " " + 0,5 g Fällung I;
VII 60 " " 1,25 " " " + 1,0 " " I;
VIII 30 " " 0,75 " frische Hefe.

Aus den Versuchen scheint hervorzugehen, daß die Ameisensäure-Formiat-Aldehydammoniak-Lösung von ausgewaschener Hefe sowohl in Gegenwart als auch in Abwesenheit des Co-Enzympräparates vergärbar ist. Es muß jedoch ausdrücklich betont werden, daß die CO_2-Entwicklung nur wenig außerhalb der Versuchsfehler lag und zuweilen nicht eintrat (V).

Tabelle VIII.

Std.	Kubikzentimeter CO_2							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	11,5	2,5	—	—	1	2	1,5	1,5
2	20	3,5	6	2	1,5	2,5	2,5	—
4	31	4,5	7	3,5	1,5	3,5	4	—
6	36,5	5,5	7,5	5	1,5	4	4	4,5

Zusammenfassung.

Die Differenz Δ — C wird bei Gärung mit ausgewaschener Hefe und aus Hefeextrakt hergestelltem Co-Enzympräparat negativ.

Die Größe der Differenz ist von der Zeit und von den anwesenden Mengen der Hefe und des Phosphates abhängig.

Ein von anorganischem Phosphat freies Co-Enzympräparat kann ausgewaschene Hefe nicht aktivieren.

Zur Kenntnis der doppelten Bindungen im Cholesterinmoleküle.

Von

Otto von Fürth und Gustav Felsenreich.

(Eingegangen am 1. März 1915.)

Mit 1 Figur im Text.

I. Einleitung.

Durch die Forschungen der letzten Jahre ist das Problem der Konstitutionsermittelung des Cholesterins wesentlich gefördert worden. Die noch bis vor kurzem gültige Cholesterinformel

$$C_{27}H_{46}O = \begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!>\!CH.CH_2.CH_2-\underset{\begin{matrix} \swarrow \quad \searrow \\ CH_2 \quad CH_2 \\ \searrow \quad \swarrow \\ CH.OH \end{matrix}}{C_{17}H_{26}}-CH=CH_2,$$

die insbesondere aus den Arbeiten von Julius Mauthner und Suida, von Windaus und Stein, Diels und Abderhalden, Neuberg, Willstätter und ihrer Mitarbeiter sich ergeben hatte, ließ immerhin noch einen großen Komplex von 17 Kohlenstoffatomen im Zentrum des Moleküls gänzlich unaufgeklärt. Einen wesentlichen Schritt vorwärts haben uns nun die weiteren Forschungen von Windaus gebracht, der sich in einer seiner neueren Arbeiten[1]) dahin ausspricht, daß sich nunmehr für das Cholesterin mit großer Wahrscheinlichkeit die folgende Konstitutionsformel ableiten läßt:

---

[1]) A. Windaus, Über einige neue Abbauprodukte des Cholesterins (Zur Kenntnis des Cholesterins XV). Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 2423, 1912.

```
CH3
   >CH.CH2.CH2—C11H17
CH3             /     \
              CH       CH
             /  \     /  \
          CH2    CH      CH.CH3
           |      |       |
          CH2    CH2      CH
             \   /        //
             CH.OH      CH2
```

Mit Hilfe dieses Schemas lassen sich alle in den bisherigen Mitteilungen beschriebenen Reaktionen in einleuchtender Weise formulieren. Diese neue Formel läßt nur mehr einen Komplex von 11 Kohlenstoffatomen unaufgeklärt, und die Frage, wieviel geschlossene Ringsysteme derselbe noch in sich birgt, läßt die völlige Lösung der chemischen Seite des Cholesterinproblems bereits in sichtbarer Weite auftauchen.

Der dem Cholesterin zugehörige Kohlenwasserstoff $C_{27}H_{46}$ ist um 10 Wasserstoffatome ärmer als der zugehörige Grenzkohlenwasserstoff $C_{27}H_{56}$. Ein Minus von 2 H kommt aber auf Rechnung der Vinylgruppe. Das verbleibende Minus von 8 H würde, wenn es sich um vollkommen gesättigte Ringsysteme handelte, vier Ringschlüsse bedeuten. Nun schien aber, neben der offen zutage tretenden Doppelbindung der Vinylgruppe, noch eine maskierte Doppelbindung im Cholesterinmolekül enthalten zu sein, die erst bei Behandlung mit Ozon manifest wird[1]). In diesem Falle wäre im Molekül nur für drei Ringschlüsse Raum vorhanden, und da die neue Formel von Windaus bereits zwei Ringschlüsse enthält, bliebe für den unaufgelösten Komplex von 11 Kohlenstoffatomen nur mehr ein Ringschluß übrig.

Nun ist aber freilich die Existenz der „maskierten Doppelbindung" im Cholesterinmolekül keineswegs eine unbestrittene Tatsache. Dieselbe wird vielmehr gerade von jenem Forscher, der auf dem Gebiete der Ozonadditionsprodukte die größte Autorität für sich in Anspruch nehmen kann, nämlich von Harries[2]), bezweifelt. Dieser Forscher gibt an, daß, wenn

---

[1]) E. Molinari und P. Fenaroli, Die doppelten Bindungen in der Formel der Cholesterine und Phytosterine. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **41**, 2785, 1908.

[2]) Harries, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 940, 943, 1912.

Cholesterin in verdünnter Hexanlösung ozonisiert wird, ein Produkt $C_{27}H_{46}O.O_3$ (der Ozonaddition an der Vinylgruppe entsprechend) resultiert. In Tetrachlorkohlenstoff resultierte allerdings ein Doppelozonid $C_{27}H_{44}O_6$. Harries deutet dies jedoch in der Weise, daß er annimmt, es entstehe zunächst durch Wasserabspaltung Cholesterylen

$$\begin{array}{c} C_5H_{11}-C_{17}H_{26}-CH=CH_2, \\ \diagup \quad \diagdown \\ CH \qquad CH_2 \\ \diagdown\!\!\diagdown \quad \diagup \\ CH \end{array}$$

das zwei doppelte Bindungen enthält. Harries stimmt daher Tschugaeff bei, der aus dem Brechungsvermögen des Cholesterins den Schluß gezogen hatte, daß dasselbe nur eine Doppelbindung enthalte.

Wenn nun Dorée[1]) findet, daß das Dihydrocholesterin (β-Cholestanol)

$$\begin{array}{c} C_{27}H_{48}O = C_5H_{11}-C_{17}H_{26}-CH_2.CH_3, \\ \diagup \quad \diagdown \\ CH_2 \qquad CH_2 \\ \diagdown \quad \diagup \\ CH.OH \end{array}$$

das ja keine Vinylgruppe mehr enthält, noch immer 1 Molekül Ozon addiert, so konnte dies immerhin im Sinne von Harries durch primäre Wasserabspaltung an der Alkoholgruppe erklärt werden. Wie soll man es aber verstehen, wenn nach Dorée das β-Cholestanon

$$\begin{array}{c} C_{27}H_{46}O = C_5H_{11}-C_{17}H_{26}-CH_2.CH_3 \\ \diagup \quad \diagdown \\ CH_2 \qquad CH_2 \\ \diagdown \quad \diagup \\ CO \end{array}$$

sogar 2 Moleküle Ozon zu addieren vermag, trotzdem es doch weder eine Vinylgruppe enthält noch aber Wasser durch eine einfache Reaktion abzuspalten vermag? Es ist dies um so auffälliger, als dieselbe Verbindung auch sehr leicht mit Brom reagiert.

Sehr auffallend und bedeutungsvoll erscheint weiterhin eine Beobachtung von Windaus und Hauth[2]), der zufolge

---

[1]) Ch. Dorée, Contributions to the Chemistry of Cholesterol and Coprosterol. Journ. of Chem. Soc. 95, 1. Hälfte, 638, 1909.

[2]) A. Windaus und A. Hauth, Notiz über Phytosterin. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 90, IV, 3681, 1907.

ein Dihydrophytosterin $C_{27}H_{48}O$ (durch Reduktion von Phytosterin mit Natrium im Amylalkohol gewonnen) noch Brom aufzunehmen vermag. Auf Grund dieser Versuche, meint Windaus, bleibe nur die Annahme übrig, daß Phytosterin (zum Unterschiede vom Cholesterin) mindestens zwei Doppelbindungen enthalten muß.

Angesichts der mitgeteilten Widersprüche und Unklarheiten schien es uns angebracht zu sein, die für die Konstitutionsermittelung des Cholesterins so bedeutungsvolle Frage der doppelten Bindungen im Molekül desselben einer erneuten Untersuchung zu unterziehen.

Dabei erschien es uns zweckmäßig, das Problem dadurch zu vereinfachen und durchsichtiger zu gestalten, daß wir (neben anderen Derivaten des Cholesterins) insbesondere auch dem β-Cholestan

$$C_{27}H_{48} = C_5H_{11}-\underset{\substack{\diagup \qquad \diagdown \\ CH_2 \qquad CH_2 \\ \diagdown \quad \diagup \\ CH_2}}{C_{17}H_{26}}-CH_2.CH_3$$

unsere Aufmerksamkeit zuwandten, als jener Verbindung, die sehr wahrscheinlich als der gesättigte Stammkohlenwasserstoff des Cholesterins aufzufassen ist, der kein Brom mehr addiert und angeblich weder durch rauchende Salpetersäure noch durch konzentrierte Schwefelsäure verändert wird[1]).

Für das systematische Studium der doppelten Bindung des Cholesterins ergaben sich uns nun drei Wege: die Untersuchung der Anlagerung von Wasserstoff, von Halogen und von Ozon.

Daß man durch einfache Einleitung von Wasserstoff in eine mit Platinmohr versetzte ätherische Lösung des Cholesterins zum Dihydrocholesterin gelangen kann, ist schon vor längerer Zeit von Willstätter und Mayer dargetan worden[2]). Neuerdings ist jedoch das Verfahren der Hydrierung aromatischer Verbindungen mit Platin und Wasserstoff

---

[1]) J. Mauthner, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 118, Abt. II, 420, 1909, und Windaus, Biochem. Handlexikon 3, 281, 1911.

[2]) Willstätter und Mayer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 2199, 1908.

von Willstätter und Hatt[1]) durch Anwendung eines Schüttelkolbens und eines mit besonderer Sorgfalt bereiteten Platinschwarzpräparates ganz wesentlich ausgestaltet worden, und zwar derart, daß dabei gleichzeitig der Wasserstoffverbrauch infolge Addition quantitativ verfolgt werden kann. Man war so imstande, vom Benzol und Phenol zum Cyclohexan zu gelangen; reine Benzoesäure läßt sich in Eisessiglösung quantitativ und ähnlich rasch wie ein Olefin perhydrieren. Da dieses verbesserte Verfahren auf das Cholesterin noch nicht angewandt worden war, schien es uns immerhin wichtig, festzustellen, ob nicht etwa die Hydrierung des Cholesterins bei geeignetem Vorgange über die Stufe des Dihydrocholesterins hinaus erzwungen und so das Vorhandensein einer maskierten Doppelbindung dargetan werden könnte.

In bezug auf die Halogenanlagerung finden sich zwar in der Literatur einige Andeutungen über die Existenz von Perhalogenderivaten des Cholesterins. Irgendwelche Angaben über die systematische Anwendung der neueren Methoden zur quantitativen Ermittelung des Halogenaufnahmevermögens (z. B. der Bromaddition nach Parker MacIlhiney, der Chlorjodaddition nach Hübl u. dgl.) auf das Cholesterin und seine Derivate vermochten wir jedoch nicht ausfindig zu machen.

Was schließlich das Ozonaufnahmsvermögen betrifft, schien es insbesondere wichtig, uns über die (bisher nicht untersuchte) Frage klar zu werden, ob der allem Anscheine nach gesättigte Stammkohlenwasserstoff des Cholesterins, das β-Cholestan, noch befähigt ist, Ozon zu addieren.

Wir gehen nunmehr zu der Mitteilung unserer Beobachtungen über.

II. Wasserstoffanlagerung.

A. Reduktion von Cholesterin zu Dihydrocholesterin.

a) Versuchsanordnung.

Wir bedienten uns, nach dem Prinzip von Willstätter und Hatt[2]), folgender Versuchsanordnung (vgl. Fig. 1).

Die Hydrierung erfolgte in einem 1 l fassenden Rundkolben aus Jenaer Glas (*a*), dessen eingeschliffener, mit zwei

---

[1]) Willstätter und Hatt, Hydrierung aromatischer Verbindungen mit Platin und Wasserstoff. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 1471, 1912.

[2]) Willstätter und Hatt, l. c.

Hahnröhren versehener Verschluß (*b*) mit an Häkchen eingreifenden Spiralfedern versichert war. Der in ein passendes Gestell einschraubbare Kolben konnte mit Hilfe eines Elektromotors (*c*) in schwingende Bewegungen versetzt werden. Der Kolben nahm die zu hydrierende Substanz (5 bis 10 g), in 100 bis 250 ccm reinstem Eisessig (Kahlbaum) gelöst, sowie das Platinschwarz (1 bis 2 g) auf. Das Zuleitungsrohr des Kolbens stand mit einem Kippschen Wasserstoffentwicklungsapparat (*d*) in unmitelbarer Verbindung; das Ableitungsrohr dagegen stellte mit Hilfe eines ca. $^1/_4$ m langen dickwandigen, gasdichten Schlauches (*e*) die Verbindung mit dem „Gasometer" her. Als solcher diente ein 1 l fassender graduierter Meßzylinder (*f*), der gleichfalls oben einen durch Spiralfedern versicherten kuppel-

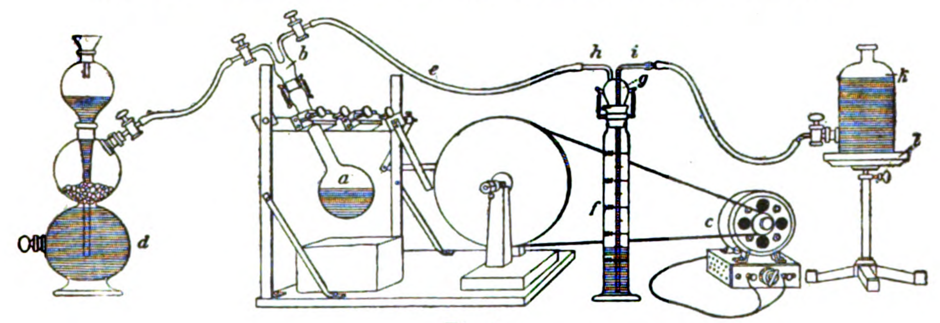


Fig. 1.

förmigen Glasschliff (*g*) trug. In diesen waren zwei Glasröhren eingeschmolzen: eine kurze (*h*), die knapp unter der Kuppel endigte, und eine lange (*i*), die nahe bis an den Boden des Meßgefäßes reichte. Das kurze Rohr diente zur Zuleitung des Wasserstoffs; das lange Rohr dagegen stellte mit Hilfe eines Schlauches die Verbindung mit einer tubulierten Flasche (*k*) her, die als Vorratsgefäß für die Sperrflüssigkeit diente und mit Hilfe eines verstellbaren Tischchens (*l*) bequem gehoben oder gesenkt werden konnte.

Der Versuch wird nun derart in Gang gebracht, daß nach Beschickung des Schüttelkolbens mit der in Eisessig gelösten, zu reduzierenden Substanz und mit Platinschwarz dieser zunächst mit Wasserstoff gefüllt wird. Dabei ist es notwendig, folgende Vorsicht zu beobachten: Das in später zu beschreibender Art bereitete Platinschwarz ist so hochwirksam, daß,

wenn man über Stäubchen desselben etwa in einem offenen Gefäße Wasserstoff leitet, man oft ein lebhaftes Aufglühen derselben beobachtet. Es ist daher einleuchtend, daß, wenn man ohne weitere Vorsicht in den Schüttelkolben nach seiner Beschickung Wasserstoff einleiten würde, die etwa den Wänden anhaftenden Platinschwarzteilchen die Gefahr einer Knallgasexplosion herbeiführen könnten. Wir pflegten dieser Gefahr derart zu begegnen, daß wir den durch zwei Glashähne absperrbaren beschickten Schüttelkolben zunächst mit Hilfe einer Wasserstrahlluftpumpe evakuierten, sodann erst vom Kippschen Apparat aus mit Wasserstoff füllten und den Vorgang noch 1 bis 3 mal wiederholten.

Der mit dem Kippschen Apparat verbundene, mit reinem Wasserstoff gefüllte Schüttelkolben wird sodann durch den Schlauch *e* an den Meßapparat *f* angeschaltet, der bis in die Kuppel hinein mit Wasser gefüllt ist. Wir lassen nun vom Kippschen Apparat her so viel Wasserstoff nachströmen, daß der größte Teil des Meßzylinders von diesem erfüllt wird, und schließen dann den Hahn zwischen dem Kippschen Apparat und dem Schüttelkolben ab. Um soweit als möglich unter Atmosphärendruck zu arbeiten, wird nun die tubulierte Flasche *k* so weit herabgesenkt, daß das Niveau in ihr und im Meßzylinder *f* das gleiche ist.

Um nun den Versuch in Gang zu bringen, wird mit Hilfe des Elektromotors der eingespannte Schüttelkolben in schwingende Bewegung versetzt. Alsbald bemerkt man, nach Maßgabe als der Wasserstoff im Apparat durch Addition verbraucht wird, ein langsames Ansteigen der Flüssigkeit im Meßzylinder *f*, das mit der größten Bequemlichkeit messend verfolgt werden kann, wobei man vor jeder Ablesung, um wieder Atmosphärendruck herzustellen, das Niveau im Meßzylinder *f* und in der tubulierten Flasche *k* auf Gleich bringt.

Das zur Verwendung gelangende Platinschwarz haben wir, der Empfehlung von Willstätter gemäß, durch Reduktion von Platinchlorid mit Formaldehyd nach O. Loew gewonnen[1]), und zwar gingen wir folgendermaßen vor:

Je 5 g Platinchlorid (Kahlbaum) wurden in einem kleinen Becherglase in 5 ccm Wasser gelöst und 7 ccm Formaldehyd 40 % hinzugefügt. Nach sehr guter Kühlung in Eis wurde eine Lösung von 5 g Ätznatron

[1]) Willstätter nnd Hatt, l. c. S. 1472.

(e Natrio Kahlbaum) in 5 ccm Wasser tropfenweise zugesetzt, wobei die Abscheidung von Platinschwarz erfolgte. Man kann dasselbe direkt weder filtrieren noch dekantieren, da die Flüssigkeit schwarz abläuft. Dagegen kann nach mehrstündigem Stehen der Niederschlag auf einem gehärteten Filter gesammelt und chlorfrei gewaschen werden. Noch zweckmäßiger fanden wir es aber, den abgeschiedenen Niederschlag nach Zusatz von Wasser erst bei 60° einige Zeit stehen zu lassen, die überstehende schwarze Flüssigkeit abzugießen und wiederholt erst mit Wasser, dann aber mit Alkohol zu dekantieren. Unter der Einwirkung des letzteren nimmt der Niederschlag dann eine derartige Beschaffenheit an, daß er auf gehärtetem Nutschfilter sehr schnell chlorfrei gewaschen werden kann. Sodann kann er im Vakuum getrocknet werden. Nur versäume man es ja nicht, ihn vorher vom Filter herunterzunehmen. In einem Falle, wo wir dies versäumt hatten, sahen wir, als wir den Hahn des Vakuumexsiccators, in dem sich das getrocknete Filter befand, öffneten, dieses in Flammen aufgehen.

b) Beispiel eines Versuches.

Die Art, wie wir unsere Versuche ausgeführt und die gewonnenen Resultate berechnet haben, wird am besten durch ein Beispiel veranschaulicht werden:

10 g reinsten Cholesterins in 250 ccm Eisessig Kahlbaum am Wasserbade gelöst, mit Wasserstoff bei Gegenwart von frisch bereiteten Platinschwarz geschüttelt. Es betrug (bei 19° und 744 mm Druck)

von $10^{h}52'$ bis $12^{h}04'$, also im Verlaufe
von 72 Min., Wasserstoffverbrauch 315 ccm, i. e. 4,4 ccm pro Minute,
von $12^{h}06'$ bis $1^{h}17'$, also im Verlaufe
von 71 Min., Wasserstoffverbrauch 156 „ „ 2,2 „ „ „
von $1^{h}18'$ bis $4^{h}25'$, also im Verlaufe
von 187 Min., Wasserstoffverbrauch 72 „ „ 0,4 „ „ „
543 ccm

Im Verlaufe des Versuches hatte sich nun eine sehr auffällige Veränderung innerhalb der Schüttelflüssigkeit in dem Sinne vollzogen, daß das schwerer lösliche Reaktionsprodukt zum großen Teil auskrystallisiert war.

Der Versuch wurde daher unterbrochen, das Reaktionsprodukt durch Erwärmen am Wasserbade im Schüttelkolben wieder in Lösung gebracht, der Apparat nach erfolgter Abkühlung neuerlich mit Wasserstoff gefüllt und die Schüttelung fortgesetzt. Es betrug

von 5^{h} bis 8^{h} abends, also im Verlaufe
von 180 Min., der Wasserstoffverbr. 90 ccm, i. e. 0,5 ccm pro Minute,
beim Stehen über Nacht der Wasserstoffverbrauch . . . . 30 „ „ 0,03 „ „ „
sodann neuerlich geschüttelt
von 8^{h} bis 11^{h} früh, also im Verlaufe
von 180 Min., der Wasserstoffverbr. 8 „ „ 0,05 „ „ „
128 ccm

Der Versuch wurde nunmehr für beendigt angesehen. Der Wasserstoffverbrauch betrug sonach 543 + 128 = 671 ccm (19°, 744 mm) = 614 ccm H (0°, 760 mm).

Da jedoch auch im blinden Versuche eine geringe Veränderung des Flüssigkeitsniveaus im Gasometer, die im Sinne eines Wasserstoffverbrauches gedeutet werden kann, in Erscheinung tritt, ergab sich die Notwendigkeit, eine Korrektur durch einen blinden Parallelversuch einzuführen.

Beim Schütteln desselben Platinschwarzpräparates mit 250 ccm reinen Eisessig betrug (bei 19,5° und 752 mm Druck)

von 1h 29' bis 3h 23', also im Verlaufe
von 114 Min., der Wasserstoffverbr. 33 ccm, i. e. 0,3 ccm pro Minute,
von 3h 23' bis 5h 56', also im Verlaufe
von 153 Min., der Wasserstoffverbr. 17 " " 0,1 " " "
50 ccm

Der Apparat wurde nunmehr geöffnet, neuerdings mit Wasserstoff gefüllt und wieder geschüttelt. Es betrug:

von 7h 03' bis 8h 14' abends, also im Verlaufe von 76 Minuten, der Wasserstoffverbrauch 15 ccm, i. e. 0,2 ccm pro Minute.

Beim Stehen über Nacht und bei weiterem 1 3/4 stündigem Schütteln war kein Wasserstoffverbrauch mehr bemerkbar.

Die Korrektur betrug sonach 50 + 15 = 65 ccm H (19,5°, 752 mm) = 60 ccm H (0°, 760 mm).

Der effektive Wasserstoffverbrauch, der auf Rechnung der H-Addition zu setzen ist, berechnet sich sonach auf 614 — 60 = 554 ccm (0°, 760 mm) für 10 g Cholesterin, i. e.

55,4 ccm H (0°, 760 mm) für 1 g Cholesterin.

Die theoretisch berechnete Wasserstoffaufnahme bei Addition von 2 H an ein Molekül Cholesterin ergibt sich mit

57,3 ccm H (0°, 760 mm) für 1 g Cholesterin.

c) Ergebnis der anderen Versuche.

Reduzierte Cholesterinmenge g	Menge des Eisessigs ccm	Dauer der Schüttelung Stunden	Wasserstoffverbrauch für 1 g Cholesterin (unter Berücksichtigung der Korrektur durch einen blinden Versuch)
5	100	9	47,4 ccm H (0°, 760 mm)
5	100	4	47,4 " H (0°, 760 ")
5	100	5	57,3 " H (0°, 760 ")
10	250	5	48,6 " H (0°, 760 ")
10	250	10	49,6 " H (0°, 760 ")
10	250	8 1/2	55,4 " H (0°, 760 ")
10	250	4 1/2	55,4 " H (0°, 760 ")
10	250	4 1/2	55,7 " H (0°, 760 ")
		Mittel:	52,1 ccm H (0°, 760 mm) gef.
			57,3 " H (0°, 760 ") ber.

Die Versuche lehren sonach in durchaus eindeutiger Weise, daß auch unter den günstigsten Versuchsbedingungen die katalytische Wasserstoffaddition an das Cholesterin unter keinen Umständen über die Stufe des Dihydrocholesterins hinausgeht, daß die Reaktion vielmehr, sobald das Cholesterin zwei Wasserstoffatome an seiner Vinylgruppe aufgenommen hat, zum Stillstand gelangt.

d) Beschaffenheit des Reduktionsproduktes.

Zur näheren Charakterisierung des durch maximale katalytische Wasserstoffanlagerung aus Cholesterin erhaltenen Reduktionsproduktes wurde dieses aus der Eisessiglösung mit Wasser gefällt, im Vakuum getrocknet, aus Alkohol, sodann aus Äther umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt betrug 138 bis 139° korr. und stieg nach weiterem Umkrystallisieren aus Petroläther auf 141,5° korr., ohne bei nochmaligem Umkrystallisieren aus Petroläther eine weitere Änderung zu zeigen. Er erwies sich nunmehr mit dem Schmelzpunkte des Dihydrocholesterins (141,5 bis 142° korr.) übereinstimmend. Das schneeweiße Präparat bestand durchweg aus schön ausgebildeten prismatischen Nadeln, denen stellenweise in Auflösung zu Nadeln befindliche Tafeln beigemengt waren.

Ein anderes einmal aus Alkohol, zweimal aus Petroläther und zweimal aus Äther umkrystallisiertes Präparat (Schmelzpunkt 141 bis 142° korr.) krystallisierte beim langsamen Eindunsten aus diesem letzteren in schönen, mehrere Zentimeter langen, zu Büscheln angeordneten prismatischen Nadeln.

Farbenreaktionen des Dihydrocholesterins. An diesen Präparaten, an deren chemischer Einheitlichkeit zu zweifeln wir nicht die mindeste Veranlassung hatten, machten wir nun eine Beobachtung, die uns für die Deutung der Farbenreaktionen des Cholesterins nicht unwesentlich zu sein scheint.

Es wird angegeben, daß das Dihydrocholesterin, das an Stelle der Vinylgruppe eine Äthylgruppe enthält, die charakteristischen Farbenreaktionen des Cholesterins nicht mehr liefert[1]). Es steht dies in Übereinstimmung mit der Meinung von

[1]) Willstätter und Mayer, l. c. S. 2202.

J. Mauthner, der sich (auf Grund von Beobachtungen an Cholestankörpern) in bezug auf die Farbenreaktion nach Liebermann-Burchhardt sowie die Chloroform-Schwefelsäurereaktion von Salkowski dahin äußert, daß „zweifellos zu deren Zustandekommen die Gegenwart einer doppelten Bindung notwendig sei“ [1]).

Als wir nun bei unseren Versuchen katalytischer Wasserstoffanlagerung an das Cholesterin immer wieder fanden, daß unsere Reaktionsprodukte eine wenn auch nur schwache, so doch immerhin deutliche Liebermann-Burchhardtsche Reaktion gaben, deuteten wir dies zunächst in dem Sinne, daß dem Dihydrocholesterin ein Rest von unreduziert gebliebenem Cholesterin beigemengt sei. Es hat sich aber später herausgestellt, daß auch unsere reinsten, von Beimengungen sicherlich freien Dihydrocholesterinpräparate das gleiche Verhalten zeigten. Es kommt bei dieser Reaktion außerordentlich auf das Mengenverhältnis der angewandten Reagenzien an: ist dasselbe kein günstiges, so fällt die Reaktion beim Dihydrocholesterin allerdings negativ aus. Anders dagegen, wenn man eine optimale Relation wählt.

Wir haben wiederholt die Intensität der Reaktion beim Cholesterin und Dihydrocholesterin colorimetrisch miteinander verglichen. Zu diesem Zwecke wurden 0,05 g Cholesterin in 100 ccm Chloroform gelöst und 10 ccm dieser Lösung mit 2 ccm Essigsäure-Anhydrid [2]) und 10 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Es trat erst eine blaue, dann aber eine tief smaragdgrüne Färbung ein. Beim Parallelversuche mit Dihydrocholesterin machte sich nach einiger Zeit eine hellgrüne Färbung bemerkbar, die etwa 8 bis 9mal schwächer war als beim Testobjekte.

Auf ein ähnliches Verhalten werden wir noch später bei Erörterung des Cholestans zu sprechen kommen.

Es ergibt sich daraus die Tatsache, daß die Liebermann-Burchhardtsche Reaktion ihrem Wesen nach nicht auf der Existenz der Vinylgruppe begründet sein kann, wenngleich das Vorhandensein einer solchen zweifellos ihren Eintritt hochgradig begünstigt.

Spezifische Drehung des Cholesterins. Wir haben noch eine die spezifische Drehung des Dihydrocholesterins betreffende Literaturangabe zu berichtigen. Dieselbe erscheint mit $[\alpha]_D^{22} = +28,8^0$ (4 g in

---

[1]) J. Mauthner, Neue Beiträge zur Kenntnis des Cholesterins (IV. Mitteilung). Sitzungsber. d. Wiener Akad. **118**, Abt. II, 428, 1909.

[2]) Es ist dabei ein gewöhnliches käufliches Präparat von Essigsäure-Anhydrid, nicht aber das reinste Kahlbaumsche Präparat zu verwenden. Vgl. Czyhlarz, Fuchs und Fürth, diese Zeitschr. **49**, 125, 1913.

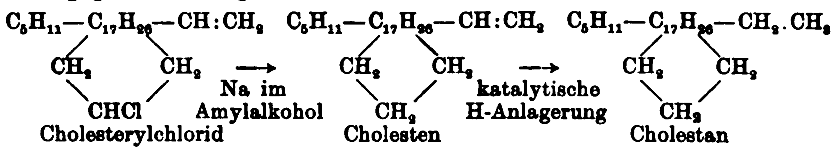
100 ccm Äther) verzeichnet[1]). Wir fanden dagegen mit Hilfe eines Polarisationsapparates mit 3teiligem Gesichtsfelde von Schmidt und Haensch bei Untersuchung ätherischer Lösungen von Dihydrocholesterin im 2-dcm-Rohre:

1. Präparat aus Alkohol und Äther umkrystallisiert . .	(4 % äther. Lösung):	$[\alpha]_D = +23{,}75^0$
2. Dasselbe Präparat, noch 3mal aus Petroläther umkrystallisiert	(4 % äther. Lösung):	$[\alpha]_D = +22{,}37^0$
3. Ein anderes Präparat, einmal aus Äther, 2mal aus Petroläther, 2mal aus Äther umkrystallisiert	(2 % äther. Lösung):	$[\alpha]_D^{18} = +24{,}75^0$
4. Dasselbe Präparat, noch einmal aus Äther umkrystallisiert	(2 % äther. Lösung):	$[\alpha]_D^{17} = +23{,}00^0$
	Mittel:	$[\alpha]_D = +23{,}46^0$

Da das Dihydrocholesterin ungefähr ebenso stark nach rechts dreht, wie das Cholesterin nach links, ist diese optische Konstante für die Unterscheidung dieser beiden Verbindungen um so wesentlicher, als deren Analysenzahlen und Schmelzpunkte voneinander nur wenig verschieden sind.

B. Reduktion von Cholesten zu Cholestan.

Wir haben nun weiterhin die katalytische Wasserstoffanlagerung an das Cholesten und die Überführung desselben in Cholestan, dessen wir für unsere weiteren Untersuchungen bedurften, genauer studiert. Wir gingen dabei vom Cholesterylchlorid aus und schlugen den von Julius Mauthner[2]) angegebenen Weg ein:



a) Darstellung von Cholesterylchlorid.

Das Cholesterylchlorid wurde nach Diels und Abderhalden[3]) durch Einwirkung von Thionylchlorid auf Cholesterin gewonnen:

---

[1]) Willstätter und Mayer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 2199, 1908.

[2]) J. Mauthner, l. c. Sitzungsber. d. Wiener Akad. 118, 2. Abt., 424, 1909.

[3]) Diels und Abderhalden, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, III, 3102, 1904.

Das Cholesterin wurde portionenweise mit dem gleichen Gewichte von Thionylchlorid versetzt und nach der unter Aufschäumen erfolgten Lösung noch die gleiche Menge von Thionylchlorid zugefügt. Der Überschuß des Reagens wurde durch Vakuumdestillation bei niederer Temperatur entfernt, der krystallinisch erstarrende Rückstand zweimal aus Äther und einmal aus Chloroform unter Alkoholzusatz, sodann noch einige Male aus reinem Äther umkrystallisiert.

Das schneeweiße Präparat, aus prismatischen Nadeln und Geschieben bestehend, gab bei langsamem Erhitzen einen Schmelzp. 94 bis 96° (statt 97°).

Die Analyse ergab: 0,1313 g Subst.; 0,3828 g CO_2; 0,1314 g H_2O
0,1522 g „ 0,488 g AgCl

gefunden:		berechnet:
	79,51 % C	80,10 % C
	11,12 % H	11,13 % H
	7,94 % Cl	8,77 % Cl
		100,00

b) Darstellung von Cholesten.

Das Cholesterylchlorid wurde nach dem Vorgange von J. Mauthner und Suida[1]) durch Reduktion mit Natrium in amylalkoholischer Lösung in Cholesten übergeführt.

Bei einem derartigen Versuche wurden 45 g Cholesterylchlorid mit 900 ccm Amylalkohol am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt und 45 g Natrium in kleinen Stücken im Verlaufe von 3 Stunden durch das Kühlrohr hindurch in die siedende Flüssigkeit eingeworfen. Sodann wurde der Amylalkohol im Vakuum aus siedendem Wasserbade abdestilliert, der ölige Rückstand wiederholt mit Wasser ausgeschüttelt und wieder am Wasserbade im Vakuum eingedunstet, schließlich wiederholt aus Äther unter Alkoholzusatz mit reichlicher Mutterlauge umkrystallisiert.

Um uns die Überzeugung zu verschaffen, daß sicherlich kein Rest unreduzierten Cholesterylchlorids unseren Präparaten beigemengt sei, wurden Proben derselben in Amylalkohol gelöst, neuerdings unter Zusatz von metallischem Natrium gekocht, sodann mit Wasser ausgeschüttelt: dasselbe gab auf Silbernitratzusatz keine Spur einer Trübung; es war daher keine weitere Chlorabspaltung mehr erfolgt.

Die so in sehr befriedigender Ausbeute (bei einem Versuche 38 g Cholesten aus 45 g Cholesterylchlorid, bei einem anderen 55 g Cholesten aus 65 g Cholesterylchlorid) gewonnene Substanz erwies sich aus schönen, scheinbar tetraedrischen und oktaedrischen Formen, die jedoch schiefe Achsen besaßen und doppelbrechend waren, bestehend. Der Schmelzpunkt wurde bei 88 bis 90° korr. gefunden, die spezifische Drehung (in 4%iger Chloroformlösung) $[\alpha]_D = -55{,}5°$ (Cholesten nach Mauthner und Suida: Schmelzp. 89 bis 90°, $[\alpha]_D = -56{,}29°$).

[1]) J. Mauthner und W. Suida, Beiträge zur Kenntnis des Cholesterins (I. Abhandlung). Sitzungsber. d. Wiener Akad. 103, Abt. IX, Jänner 1894.

c) Reduktion von Cholesten zu Cholestan.

Die katalytische Wasserstoffanlagerung an das Cholesten ist seinerzeit von J. Mauthner[1]) durch langdauerndes Einleiten von Wasserstoff in eine ätherische Cholestenlösung bei Gegenwart von Platinmohr durchgeführt worden.

Wir haben diese Anlagerung bei quantitativer Beobachtung des Wasserstoffverbrauchs in Eisessiglösung im Schüttelkolben unter denselben Versuchsmodalitäten durchgeführt, die oben bei Überführung des Cholesterins in Dihydrocholesterin geschildert worden sind.

Wir geben auch hier nur einen unserer Versuche in seinen Einzelheiten, die anderen jedoch summarisch wieder.

5 g Cholesten in 250 ccm Eisessig bei Gegenwart von Platinmohr geschüttelt (bei 19° und 746 mm).

Von 12h 07′ bis 12h 10′, also im Verlaufe von 3 Min., Wasserstoffverbrauch	51 ccm,	i. e. 17,0 ccm pro Minute,
von 12h 10′ bis 12h 38′, also im Verlaufe von 28 Min., Wasserstoffverbrauch	115 „	„ 4,1 „ „ „
von 12h 38′ bis 4h 26′, also im Verlaufe von 228 Min., Wasserstoffverbrauch	165 „	„ 0,7 „ „ „
von 4h 26′ bis 5h 07′, also im Verlaufe von 41 Min., Wasserstoffverbrauch	3 „	„ 0,07 „ „ „
	334 ccm	

Der Versuch wurde nun unterbrochen, das auskrystallisierte Reaktionsprodukt durch Erwärmen des Schüttelkolbens gelöst und der Apparat nach Erkalten neuerlich mit Wasserstoff gefüllt und neuerlich geschüttelt:

Von 5h 42′ bis 6h 03′, also im Verlaufe von 21 Min., Wasserstoffverbrauch	30 ccm,	i. e. 1,5 ccm pro Minute,
von 6h 03′ bis 6h 30′, also im Verlaufe von 27 Min., Wasserstoffverbrauch	15 „	„ 0,5 „ „ „
beim Stehen über Nacht Wasserstoffverbrauch	10 „	
Am nächsten Morgen wiederum geschüttelt:		
von 8h 15′ bis 9h 30′, also im Verlaufe von 75 Min., Wasserstoffverbrauch	0 „	„ 0 „ „ „
	55 ccm	

Kein weiterer Wasserstoffverbrauch mehr.

Im ganzen waren also verbraucht worden: $334 + 55 = 389$ ccm H (19°, 746 mm) $=$ 357 ccm H (0°, 760 mm).

[1]) J. Mauthner, l. c. Sitzungsber. d. Wiener Akad. 118, 2. Abt., S. 420 u. 426, 1909.

Die Korrektur durch einen blinden Parallelversuch ergab: 61 ccm H (0°, 760 mm). Sonach betrug der Wasserstoffverbrauch für 5 g Cholesten 357 — 61 = 296 ccm H (0°, 760 mm), i. e.

59,2 ccm H (0°, 760 mm) für 1 g Cholesten.

Die theoretisch berechnete Wasserstoffaufnahme bei Addition von 2 Wasserstoffatomen an ein Molekül Cholesten ergibt sich mit

60,0 ccm H (0°, 760 mm) für 1 g Cholesten.

Wir lassen die Resultate unserer weiteren Versuche der gleichen Art in summarischer Darstellung folgen.

Präparat	Reduzierte Cholestenmenge g	Menge des Eisessigs ccm	Dauer der Schüttelung Std.	Wasserstoffverbrauch für 1 g Cholesten (unter Berücksichtigung der Korrektur durch einen blinden Versuch)
I	5	250	7	59,2 ccm H (0°, 760 mm)
II	10	250	8	56,8 „ „ (0°, 760 „)
II	10	250	10½	51,4 „ „ (0°, 760 „)
III	10	250	9½	56,0 „ „ (0°, 760 „)
III	10	250	15	56,3 „ „ (0°, 760 „)
III	10	250	16	59,0 „ „ (0°, 760 „)
			Mittel gefunden:	56,4 ccm H (0°, 760 mm)
			berechnet:	60,0 „ „ (0°, 760 „)

Es ergibt sich hier sonach mit derselben Eindeutigkeit wie beim Übergange des Cholesterins in Dihydrocholesterin, daß man auch bei Einhaltung sehr günstiger Versuchsbedingungen nicht imstande ist, eine weitergehende katalytische Wasserstoffanlagerung zu erzielen, als dem Übergange der Vinylgruppe in eine Äthylgruppe entspricht.

d) Beschaffenheit des Reduktionsproduktes.

Zum Zwecke der Isolierung des auf katalytischem Wege erhaltenen Reduktionsproduktes wurde eine vom Platinmohr abfiltrierte Eisessiglösung in Wasser eingetropft. Die zunächst schwer filtrierbare Fällung wurde nach Zusatz gesättigter Kochsalzlösung und Stehen über Nacht körnig und leicht filtrierbar; dieselbe wurde chlorfrei gewaschen und 3 mal aus Äther umkrystallisiert. Die aus Chloroform in schönen Rosetten krystallisierende Substanz erwies sich unfähig, Brom zu addieren, schmolz bei 80,5° korr. und gab (in 2%iger Chloroformlösung im 2-dcm-Rohre untersucht) eine spezifische Drehung $[\alpha]_D = + 23{,}5^0/_0$. Die Substanz erwies sich sonach mit dem Chole-

stan Mauthners[1]) (Schmelzp. 80°, $[\alpha]_D$ in 3%iger Chloroformlösung + 24,2 bis 24,6°) übereinstimmend.

Wir haben nun weiterhin das bei obigen Versuchen maximaler Reduktion von Cholesten (durch Anlagerung von Wasserstoff in Eisessiglösung bei Gegenwart von Platinmohr und Fällung mit Wasser) erhaltene größere Quantum von Roh-Cholestan durch sukzessives 5 maliges Umkrystallisieren aus heißem Alkohol, Äther, Äther-Alkohol, wiederum aus Äther, endlich aus Essigäther sehr sorgfältig gereinigt. Das so erhaltene Präparat zeigte jedoch nunmehr einen wesentlich niedrigeren Schmelzpunkt (74° korr.) und auch eine geringere spezifische Drehung $[\alpha]_D^{16°} = + 21,09°$ (3%ige Chloroformlösung).

Weiteres 2 maliges Umkrystallisieren aus Äther-Alkohol hatte keine wesentliche Veränderung dieser physikalischen Konstanten zur Folge: (Schmelzp. 74° korr., $[\alpha]_D^{18°} = + 21,7°$).

5 g dieses Präparates, das sich, nebenbei bemerkt, unfähig erwies, Brom zu addieren, wurde nun, in 250 ccm Eisessig gelöst, einer abermaligen katalytischen Reduktionsprozedur mit hochwirksamem Platinschwarz unterworfen. Doch erfolgte auch bei mehrstündigem Schütteln absolut keine weitere Wasserstoffanlagerung.

Das Produkt wurde nunmehr wieder durch Wasserfällung aus dem Eisessig abgetrennt und dann durch fraktionierte Krystallisation aus Alkohol-Äther in eine in Alkohol leichter lösliche Fraktion (A) und in eine in Alkohol schwerer lösliche Fraktion (B) zerlegt. Beide Fraktionen krystallisierten in schönen Täfelchen und gaben einen Schmelzpunkt 74 bis 80° (der von der Festigkeit mit der die Probe im Schmelzpunktröhrchen eingestopft war, bis zu einem gewissen Grade abhängig schien). Die spezifische Drehung (3%ige Chloroformlösung im 2-dm-Rohre beobachtet) wurde für Fraktion A mit $[\alpha]_D^{28°} = + 21,3°$, für Fraktion B mit $[\alpha[_D^{24°} = 23,0°$ gefunden.

Sollte unser Cholestan nicht vielleicht ein Gemenge zweier isomerer Cholestane gewesen sein? Wir möchten hier darauf hinweisen, daß, wie Windaus und Uibrig[2]) kürzlich mitgeteilt haben, das β-Cholestanol (= Dihydrocholesterin) beim Kochen mit Natriumamylat in Amylalkohol teilweise in das isomere, durch die räumliche Stellung des Hydroxyls unterschiedene ε-Cholestanol übergeht, wobei sich ein Gleichgewicht zwischen den beiden Isomeren einstellt. Wäre es nicht denkbar, daß sich ähnliche Verhältnisse auch bei der Reduktion des Cholesterylchlorids zu Cholesten mit Natrium und Amylalkohol geltend machen könnten? Ein Ein-

---

[1]) J. Mauthner, Sitzungsber. d. Wiener Akad. 118, 420, 1909.

[2]) A. Windaus und Uibrig, Über β-Cholestanol. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 47, 2384, Juli 1914.

gehen auf diese Frage lag außerhalb des Rahmens dieser Abhandlung.

Die Analyse bzw. Mikroanalyse (nach Pregl) des 5 mal umkrystallisierten Präparates wurde im Laboratorium von H. Weil in München ausgeführt:

a) Gewöhnliche Verbrennung:

0,1400 g Subst.; 0,4420 g CO_2; 0,1633 g H_2O
86,14 % C 12,93 % H;

b) Mikroanalyse:

21,51 mg Subst.; 68,34 mg CO_2; 24,01 mg H_2O
86,66 % C 12,41 % H.

Gefunden: C 86,14 % 86,66 %
H 12,93 % 12,41 %.

Berechnet nach Windaus[1]: 87,01 %
$C_{27}H_{48}$ 12,99 %
100,00 %

(Biochem. Handlexikon 3, 281, 1911.)

Farbenreaktionen des Cholestans. Schließlich noch eine Bemerkung über die Farbenreaktionen des Cholestans.

Mauthner[2] gibt an, daß, wenn man die Cholestolreaktion in der Weise ausführt, daß man die Substanz in Chloroform löst und 10 Tropfen Essigsäureanhydrid sowie 1 bis 2 Tropfen konzentrierte Schwefelsäure hinzufügt, dieselbe beim Cholestan ein völlig negatives Resultat gibt.

Wir können diese Beobachtung vollkommen bestätigen, möchten aber hinzufügen, daß die hier gewählte Relation der angewandten Reagenzien keineswegs eine optimale ist. Wählt man die Relation aber derart, daß 10 ccm einer 0,05 %igen Cholestanlösung mit nur 2 Tropfen Essigsäureanhydrids, dagegen mit 10 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt werden, so tritt im Verlaufe einiger Minuten eine sehr deutliche blaßgrüne Färbung ein, die, wie der colorimetrische Vergleich lehrt, allerdings etwa 15 bis 20 mal schwächer ist als die analoge Cholesterinreaktion.

Immerhin lehrt diese Beobachtung, ebenso wie die analoge beim Dihydrocholesterin, daß die Lieber-

[1]) J. Mauthner (Sitzungsber. d. Wiener Akad. 118, 421, 1909, berechnet für $C_{27}H_{46}$: C 87,48 %
H 12,52 %
100,00 %.

[2]) Mauthner, l. c. S. 420.

mann-Burchhardtsche Reaktion keinesfalls die Intaktheit der Vinylgruppe zur Voraussetzung hat.

Wir haben schließlich festgestellt, wie sich das Cholestan gegenüber den von Tschugajeff[1]) angegebenen Cholesterinreaktionen verhält.

Beim Zusammenschmelzen von Trichloressigsäure mit Cholestan erhielten wir eine gelbgrünlich fluorescierende Schmelze, während eine Parallelprobe mit Cholesterin eine rosenrote Färbung gab.

Beim Erwärmen von etwas Cholestan mit Benzoylchlorid bei Gegenwart von Chlorzink trat Braunfärbung auf; bei weiterem Zusatze von Eisessig: Gelbfärbung. Die Parallelprobe mit Cholesterin gab eine dunkelrote Färbung, und bei Eisessigzusatz einen Farbenumschlag in Violett.

Beim Erwärmen von Cholestan mit Acetylchlorid bei Gegenwart von Chlorzink bemerkten wir eine gelbe Färbung mit einem Stich ins Rötliche, wogegen das Cholesterin schon in minimaler Menge eine intensive Rotfärbung gab.

III. Halogenanlagerung.

Bromaddition an Cholesterin und Dihydrocholesterin.

a) Zum Zwecke der Feststellung des Ausmaßes der Bromaddition nach dem Verfahren von Parker Mc Ilhiney[2]) wurde eine abgewogene Menge von Cholesterin oder Dihydrocholesterin in Tetrachlorkohlenstoff gelöst und in einer mit einem eingeschliffenen Hahnrohre versehenen Flasche mit einem Überschusse einer Bromlösung in Tetrachlorkohlenstoff, deren Titer durch Thiosulfattitration nach Jodkalizusatz festgestellt worden war, unter zeitweisem Umschütteln stehen gelassen. Nach einer gewissen Zeit wurde die Menge des noch in Freiheit befindlichen Broms unter Einhaltung der durch das Verfahren vorgeschriebenen Kautelen mit Jodkalilösung, Thiosulfat und Stärkekleister zurücktitriert.

Es stellte sich jedoch heraus, daß bei Versuchen dieser Art sich in der Reaktionsflüssigkeit stets etwas Bromwasserstoffsäure findet, deren Brom naturgemäß, ebenso wie das in organische Bindungen aufgenommene Brom, der direkten Titration entgeht. Dagegen kommt dieses Brom nach weiterem Zusatz von Kaliumjodatlösung zum Vorscheine und wird der

---

[1]) M. L. Tschugajeff, Über einige Reaktionen des Cholesterins. Russ. Arch. f. Pathol. 9, 289; zit. nach Jahresber. f. Tierchem. 30, 62, 1900.

[2]) Hans Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen, 2. Aufl., S. 950, 1909.

Thiosulfattitration zugänglich. Dabei hat man zu beachten, daß (nach der Gleichung $5\,HBr + HJO_3 = 5\,Br + J + 3\,H_2O$) nur $^5/_6$ der titrimetrisch ermittelten Menge als HBr in Rechnung zu setzen ist.

1. 1,0148 g Cholesterin in 10 ccm CCl_4 gelöst; dazu 30 ccm Bromlösung in CCl_4 mit einem Bromgehalte entsprechend 89,1 ccm $^n/_{10}$-Br. Nach 15 stünd. Stehen bei Zimmertemperatur zurücktitriert: 24,5 ccm Br. Daher sind 89,1 — 24,5 = 65,6 ccm $^n/_{10}$-Br aus der Reaktionsflüssigkeit verschwunden; davon kommen nach Zusatz von KJO_3 noch 6,0 ccm $^n/_{10}$-Br zum Vorschein. Die effektive Bromaddition betrug sonach 65,6 — 6,0 = 59,6 ccm $^n/_{10}$-Br, i. e.

für 1 g Cholesterin 58,7 ccm $^n/_{10}$-Br gefunden, statt
„ 1 „ „ 51,8 „ „ berechnet (für Aufnahme von Br_2 pro Molekül).

2. 1,0007 g Cholesterin in 10 ccm CCl_4, dazu 30 ccm Bromlösung mit einem Gehalt von 86,1 ccm $^n/_{10}$-Br. Nach Stehen über Nacht waren noch 26,3 ccm $^n/_{10}$-Br bei direkter Titration, und weitere 6,0 ccm $^n/_{10}$-Br nach Zusatz von KJO_3 nachweisbar, im ganzen also 32,3 ccm $^n/_{10}$-Br. Also addiert: 86,1 — 32,3 = 53,8 ccm $^n/_{10}$-Br, i. e.

für 1 g Cholesterin 53,8 ccm $^n/_{10}$-Br gefunden, statt
„ 1 „ „ 51,8 „ „ berechnet.

3. 0,5084 g Dihydrocholesterin (reines, 2 mal auf katalytischem Wege mit Platinmohr und Wasserstoff reduziertes Präparat) in 10 ccm CCl_4 gelöst; dazu 20 ccm Bromlösung in CCl_4 mit einem Gehalte von 56,8 ccm $^n/_{10}$-Br. Nach Stehen über Nacht waren noch 29,9 ccm $^n/_{10}$-Br direkt und 3,6 ccm $^n/_{10}$-Br nach weiterem Zusatz von KJO_3 nachweisbar, im ganzen also 29,9 + 3,6 = 33,5 ccm $^n/_{10}$-Br. Die Bromaddition betrug sonach 56,8 — 33,5 = 23,3 ccm $^n/_{10}$-Br, i. e.

für 1 g Dihydrocholesterin 45,9 ccm $^n/_{10}$-Br.

4. 0,5058 g Dihydrocholesterin in 10 ccm CCl_4 gelöst; dazu 20 ccm Bromlösung in CCl_4 mit einem Gehalte von 58,0 ccm $^n/_{10}$-Br. Am nächsten Tag fanden sich nach Zusatz von 30 ccm KJ 10% direkt 28,3 ccm $^n/_{10}$-Br, und nach weiterem Zusatze von 5 ccm KJO_3 2% noch 4,4 ccm $^n/_{10}$-Br, im ganzen also 28,3 + 4,4 = 32,7 ccm $^n/_{10}$-Br. Die Bromaddition betrug sonach 58,0 — 32,7 = 25,3 ccm $^n/_{10}$-Br, i. e.

für 1 g Dihydrocholesterin 50,0 ccm $^n/_{10}$-Br.

5. 0,5022 g Dihydrocholesterin (1 mal aus Alkohol, 2 mal aus Petroläther, 2 mal aus Äther umkrystallisiertes Präparat, in mehrere Zentimeter langen und zu Büscheln angeordneten Nadeln krystallisierend, Schmelzp. 141 bis 142° korr.).

Präparat in 65 ccm CCl_4 gelöst; dazu 20 ccm Bromlösung mit einem Gehalte entsprechend 75,4 ccm $^n/_{10}$-Br. Nach 24 stündigem Stehen fanden sich direkt 49,0, und nach weiterem KJO_3-Zusatz noch 3,8 ccm $^n/_{10}$-Br, im ganzen also 52,8 ccm $^n/_{10}$-Br. Die Bromaddition betrug sonach 75,4 — 52,8 = 22,6 ccm $^n/_{10}$-Br, i. e.

für 1 g Dihydrocholesterin 45,0 ccm $^n/_{10}$-Br.

6. 0,5015 g Dihydrocholesterin in 15 ccm CCl_4 gelöst; dazu 20 ccm Bromlösung in CCl_4 mit einem Gehalte von 79,0 ccm $^n/_{10}$-Br. Nach 15 stündigem Stehen im Dunkeln fanden sich noch 48,9 ccm $^n/_{10}$-Br direkt und 5,1 ccm $^n/_{10}$-Br nach Zusatz von KJO_3, im ganzen also 54,0 ccm $^n/_{10}$-Br. Die Bromaddition betrug sonach 79,0 — 54,0 = 25,0 ccm $^n/_{10}$-Br, i. e.

für 1 g Dihydrocholesterin 49,9 ccm $^n/_{10}$-Br.

b) Es ergibt sich aus diesen Versuchen die ganz unerwartete Tatsache, daß das Dihydrocholesterin noch befähigt ist, Brom in sich aufzunehmen, und zwar in annähernd demselben Ausmaße wie das Cholesterin. Ich habe bereits oben erwähnt, daß Windaus und Hauth das Bromaufnahmevermögen des Dihydrophytosterins bemerkt und in bezug auf diese Eigenschaft einen Gegensatz zwischen Cholesterin und Phytosterin vermutet haben. Es macht den Eindruck, als ob etwa durch Umwandlung der Vinylgruppe des Cholesterins in eine Äthylgruppe eine bis dahin maskierte zweite doppelte Bindung erst gewissermaßen „aktiviert“ würde. Daß das Bromadditionsvermögen des Dihydrocholesterins beim qualitativen Versuche übersehen wurde, findet in dem Umstande seine natürliche Erklärung, daß die Bromaufnahme beim Dihydrocholesterin sich nur außerordentlich langsam vollzieht.

In welchem Ausmaß dies der Fall ist, ergibt sich aus nachfolgendem Versuche, bei dem das Bromadditionsvermögen des Cholesterins mit demjenigen des Dihydrocholesterins verglichen wurde.

1 g Cholesterin wurde in 30 ccm CCl_4 gelöst. Aus einer Bürette wurde eine Bromlösung, deren Gehalt im Kubikzentimeter 0,79 ccm $^n/_{10}$-Br betrug, portionenweise zufließen gelassen. (Zur Absättigung von 1 g Cholesterin waren demnach berechnungsgemäß $\frac{51,8}{0,79} = 65,5$ ccm dieser Bromlösung erforderlich.) Es ergab sich nun, daß 60 ccm der Bromlösung, die portionenweise im Laufe von 11 Minuten zugesetzt worden waren, fast momentan entfärbt wurden; bei Mehrzusatz von 5 ccm blieb ein gelblicher Stich bestehen; bei Zusatz von weiteren 5 ccm trat eine dunkelgelbe, vom Bromüberschusse herrührende Färbung auf, die tagelang erhalten blieb.

Anders dagegen beim Parallelversuche mit Dihydrocholesterin: Schon die ersten zugesetzen 5 ccm der Bromlösung brauchten ca. 20 Minuten bis zur völligen Entfärbung; weitere 10 ccm waren erst nach ca. 8 Stunden größtenteils verbraucht; es wurden dann noch 20 ccm hinzugefügt: Der

größte Teil des Broms war zwar am nächsten Tage verbraucht, doch erschien die Flüssigkeit noch nach 3 Tagen hellgelb.

Offenbar spielen Massenwirkungen hier eine Rolle, derart, daß die Bromaufnahme auch von der relativen Menge des noch vorhandenen Bromüberschusses abhängt.

Wir haben einen weiteren Versuch in der Art ausgeführt, daß wir 2 g Dihydrocholesterin in 60 ccm CCl_4 lösten, dazu 60 ccm einer Bromlösung mit einem Gehalte von 38,6 ccm $^n/_{10}$-Br in 10 ccm. Von diesem Gemenge, das also ursprünglich $\frac{38,6}{2} = 19,3$ ccm $^n/_{10}$-Br in 10 ccm enthielt, wurden von Zeit zu Zeit Proben zu je 10 ccm entnommen und auf ihren Bromgehalt geprüft. Die theoretisch berechnete Bromaufnahme für 2 g Dihydrocholesterin bei Addition von 2 H pro Molekül berechnet sich mit $2 \times 50,9 = 101,8$ ccm $^n/_{10}$-Br für die Gesamtmenge der Flüssigkeit (120 ccm). Für eine Probe von 10 ccm demnach: $\frac{101,8}{12} = 8,5$ ccm Br.

Nun fand sich in den zu verschiedenen Zeiträumen entnommenen Proben zu je 10 ccm:

	ccm Br	Abnahme an Br ccm $^n/_{10}$-Br	i. e. % der für Addition von 2 H berechneten Menge (8,5 ccm $^n/_{10}$-Br) %	
Vor Beginn des Versuches:	19,3	0	0	
Sogleich nach Ansatz des Versuches:	17,8	1,5	17	
Nach $^1/_2$ Stunde	16,3	3,0	35	
„ $4^1/_2$ „	14,0	5,3	62	
„ 22 „	10,6	8,7	102	
„ 48 „	7,2	12,1	142	Beim Öffnen der Flaschen entweichen große Mengen freier Bromwasserstoffsäure.
„ 72 „	5,4	13,9	163	
„ 6×24 „	2,0	17,3	202	

Dieser Versuch gewährt in den zeitlichen Ablauf der Bromaddition klaren Einblick, lehrt jedoch gleichzeitig, daß bei sehr langer Dauer des Versuches die Bromeinwirkung noch weiter geht, und zwar in dem Sinne, daß offenbar weiterhin sich nicht eine einfache Bromaddition $\left(\begin{matrix} R.CH \\ \| \\ R.CH \end{matrix} + Br_2 = \begin{matrix} R-CH-Br \\ | \\ R-CH-Br \end{matrix}\right)$, vielmehr eine Substitution $(R.CH + Br_2 = R.CBr + HBr)$ vollzieht, die am Freiwerden von Bromwasserstoffsäure kenntlich ist.

In welchem Ausmaße dies der Fall ist, ist aus nachstehenden Versuchen ersichtlich, bei denen Dihydrocholesterin der

langdauernden Einwirkung überschüssigen Broms ausgesetzt wurde.

Dihydro-cholesterin	Gelöst in CCl_4 ccm	Dazu Brom-lösung ccm	Mit einem Gehalte v. $^n/_{10}$-Br ccm	Titriert nach Tagen	Es fanden sich in der Reaktionsflüssigkeit direkt ccm $^n/_{10}$-Br	nach Zusatz v. KJO_3 noch cm $^n/_{10}$-Br	Bromverbrauch f. 1 g Dihydrochol. cm $^n/_{10}$-Br
0,5019	15	20	77,0	4	19	11	93,6
0,5020	20	20	77,6	8	14,9	20,7	84,0
0,4995	20	40	223,6	8	139,4	39,9	88,6

Es entspricht dies offenbar der Beobachtung H. Schrötters[1]), der bei Einwirkung von überschüssigem Brom auf Cholesterin unter Abspaltung von Wasserstoff amorphe und mangelhaft charakterisierte Polysubstitutionsprodukte, angeblich von der Zusammensetzung $C_{27}H_{28}Br_9O$, $C_{27}C_{26}Br_6O$, $C_{27}H_{30}Br_2O$ erhalten hatte. Es ist einleuchtend, daß wir von dieser Seite für das uns interessierende Problem keine Förderung zu erwarten hatten.

c) Wir haben uns nun weiterhin bemüht, jenes Produkt, das bei der Bromaddition an Dihydrocholesterin, wie sie bei normalen (24 Stunden nicht übersteigender) Versuchsdauer titrimetrisch mit solcher Regelmäßigkeit in Erscheinung getreten war, chemisch zu isolieren.

Zu diesem Zwecke wurden 5 g reinen Dihydrocholesterins mit 150 ccm ca. $^n/_3$-Bromlösung in CCl_4 1 Tag stehen gelassen. Sodann wurden das überschüssige Brom und der Tetrachlorkohlenstoff abdestilliert und der Rückstand 3 mal aus Äther umkrystallisiert.

Es resultierte eine in weißen, seidenartig glänzenden Blättchen krystallisierende Substanz, Schmelzp. 140 bis 143° korr., die sich zu unserer Überraschung als bromfrei erwies. Die Analyse ergab:

0,1050 g Subst.; 0,3213 g CO_2; 0,1183 g H_2O Für Dihydrocholesterin $C_{27}H_{48}O$

gefunden:	C 83,43 %	berechnet:	C 83,45 %
	H 12,47 %		H 12,45 %
	O 4,10 %		O 4,10 %
	100,00 %		100,00 %

Es unterliegt nicht den mindesten Zweifel, daß die analysierte Substanz reines und unverändertes Dihydrocholesterin war. Es ergibt sich daraus die Tatsache, daß die sich

[1]) H. Schrötter, Über das Cholesterin. Monatschr. f. Chem. 24, 220, 1903.

langsam vollziehende, aber titrimetrisch vollkommen scharf nachweisbare Bromaddition an das Dihydrocholesterin nicht etwa der (unter Bildung eines wohldefinierten und schönkrystallisierten Produktes $C_{27}H_{46}OBr_2$ erfolgenden) Bromanlagerung an die Vinylgruppe des Cholesterins an die Seite gestellt werden darf. Es handelt sich vielmehr offenbar nur um eine leicht dissoziable Anlagerung physikalisch-chemischer Art, nicht aber um die Absättigung einer echten doppelten Bindung.

Addition von Chlorjod an Cholesterin und Dihydrocholesterin.

d) Wir haben, um unsere Beobachtungen auf eine breitere Basis zu stellen, auch das so vielfach brauchbare Chlorjod-Additionsverfahren nach Hübl[1]) auf das Cholesterin und Dihydrocholesterin angewandt.

1. 0,5011 g Cholesterin wurden in 15 ccm Chloroform gelöst, mit 25 ccm der Hüblschen Lösung versetzt und nach einem Tag titriert. Der Titer von 25 ccm der Jodlösung entsprach 36,9 ccm $^n/_{10}$-J. Ein blinder Kontrollversuch mit 15 ccm Chloroform ergab nur eine Addition entsprechend 0,3 ccm $^n/_{10}$-J. Beim Zurücktitrieren ergab sich eine Addition von 36,9 — 14,8 = 22,1 ccm $^n/_{10}$-Chlorjod, i. e.

für 1 g Cholesterin Addition v. 44,2 ccm $^n/_{10}$-Chlorjod gefunden,
statt „ 1 g „ „ „ 51,8 „ „ „ berechnet.

2. Parallelversuch mit 0,5042 g Dihydrocholesterin: Der Verbrauch betrug 36,9 — 32,7 = 4,2 ccm $^n/_{10}$-J, i. e.
für 1 g Dihydrocholesterin Addition von 8,3 ccm $^n/_{10}$-Chlorjod gef.

Also nichts weiter als die Andeutung einer Addition an die hypothetische „zweite doppelte Bindung“.

Verhalten des Cholestans.

e) Wir haben schließlich noch das Verhalten unseres β-Cholestans in bezug auf die Bromaddition nach dem Verfahren von Parker Mc Ilhiney geprüft.

1. 0,5080 g Cholestan, gelöst in 20 ccm CCl_4; dazu 20 ccm Bromlösung mit einem Gehalte von 74,0 ccm $^n/_{10}$-Br. Beim Zurücktitrieren nach 24 stündigem Stehen fanden sich direkt 70,3 ccm $^n/_{10}$-Br, bei weiterem Zusatze von KJO_3 noch 1,4 ccm $^n/_{10}$-Br. Der Bromverlust betrug demnach nur 74,0 — 71,7 = 2,3 ccm $^n/_{10}$-Br.

---

[1]) Hans Meyer, Analyse etc. l. c. S. 952.

2. 0,5000 g Cholestan, gelöst in 10 ccm CCl_4; dazu 10 ccm Bromlösung mit einem Gehalt von 109,4 ccm $^n/_{10}$-Br. Beim Zurücktitrieren nach 24 stündigen Stehen fanden sich direkt 105,3 ccm $^n/_{10}$-Br, bei weiterem Zusatze von KJO_3 noch 3,6 ccm $^n/_{10}$-Br, im ganzen also 105,3 + 3,6 = 108,9 ccm $^n/_{10}$-Br. Der Bromverlust betrug sonach nur 109,4 — 108,9 = 0,5 ccm $^n/_{10}$-Br.

Es war sonach beim Cholestan praktisch keine Bromaddition nachweisbar. Wir werden daraus allerdings auf die doppelten Bindungen des Cholesterins insofern keinen Schluß ziehen können, als bei der Darstellung des Cholestans (s. o.) gelegentlich der Reduktion des Cholesterylchlorids mit Natrium in Amylalkohol zu Cholesten ja auch eine Wasserstoffanlagerung an eine „maskierte" doppelte Bindung erfolgt sein konnte.

Wir werden jedoch unsere Erfahrungen in bezug auf die Halogenanlagerung an das Cholesterin und seine Derivate dahin zusammenfassen können, daß sich keinerlei Anhaltspunkte für das Vorhandensein einer echten doppelten Bindung im Cholesterinmolekül ergeben haben, und daß das beim Dihydrocholesterin beobachtete Verschwinden titrierbaren Broms nur im Sinne einer leicht dissoziablen Verbindung physikalisch-chemischer Art gedeutet werden kann.

IV. Ozonanlagerung.

Nachdem also sowohl die Versuche mit katalytischer Wasserstoffanlagerung, als auch jene mit Halogenaddition in bezug auf die Frage einer zweiten doppelten Bindung im Cholesterinmolekül ein negatives Resultat ergeben hatten, bleibt als Argument zugunsten der Existenz einer solchen nur das Verhalten des Cholesterins und seiner Derivate in bezug auf die Ozonanlagerung übrig. Wir sind nun daran gegangen, dasselbe kritisch zu überprüfen.

Langheld[1]) hat im Laboratorium von Harries gefunden, daß wenn er Ozon auf Cholesterin einwirken ließ, dieses „zum mindesten zwei, vielleicht aber noch mehr O_3-Komplexe anlagert".

Molinari[2]) hatte bereits im Jahre 1905 gemeinsam mit Bono Ozon auf Cholesterin einwirken lassen und erhielt in ätherischer Lösung Ozonide, die eine zwischen $C_{27}H_{46}O.O_3$ und $C_{27}H_{46}O.O_4$ schwankende

---

[1]) K. Langheld, Über das Verhalten der Cholsäure gegen Ozon. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1023, 1908.

[2]) E. Molinari und P. Fenaroli, l. c.

Zusammensetzung zeigten. In weiterer Verfolgung derartiger Untersuchungen in Gemeinschaft mit Fenaroli ließ er nun einen ozonisierten Luftstrom auf in Chloroform gelöstes Phytosterin und Cholesterin einwirken. Indem er das gewogene Gefäß, welches das Ozonid enthält, im Vakuum auf 60° erhitzte, erhielt er angeblich innerhalb einer halben Stunde Gewichtskonstanz. „Es ist bewiesen," heißt es weiter, „daß Cholesterin wie Phytosterin zwei doppelte Bindungen enthält. Die „Ozonzahl" eignet sich besser als irgendeine andere Reaktion dazu, die Anzahl der wahren doppelten Bindungen in den organischen Verbindungen festzustellen."

O. Diels[1]) fand, daß das Rohozonid des Cholesterins bei Behandlung mit kaltem Alkohol einen Teil seines Sauerstoffs verliert und sich in ein Ozonid von der Zusammensetzung $C_{27}H_{46}O.O_4$ verwandelt. Die Bildung derartiger Perozonide

```
 ( \C—O—O           \C—O\     )
 (  |    |   statt    |   >O  )
 ( /C—O—O           /C—O/     )
```

ist auch von Langheld bei der Cholsäure beobachtet worden.

Weiterhin hat nun Dorée[2]) das Ozonanlagerungsvermögen des Cholesterins und einiger Derivate desselben geprüft, indem er einen Gasstrom mit einem Gehalte von etwa 1°/₀ Ozon auf Chloroformlösungen dieser Substanzen einwirken ließ. Der Autor legt großen Wert darauf, daß die Ozonide bei hoher Temperatur (oberhalb ihres Schmelzpunktes) am Wasserbade im hochgradigen Vakuum getrocknet werden, da man sonst Gefahr laufe, daß die harten Ozonidfirnisse Chloroform zurückhalten. Dorée fand so für das Ozonid des Cholesterins die Zusammensetzung $C_{27}H_{46}O.O_6$, für das β-Cholestanol (Dihydrocholesterin): $C_{27}H_{48}O.O_3$ für das zugehörige Keton, das β-Cholestanon jedoch: $C_{27}H_{46}O.O_6$. Die letzterwähnte Beobachtung (vgl. die Einleitung S. 418), derzufolge also das Keton, das keine Vinylgruppe mehr enthält, dennoch imstande ist, nicht nur eine, sondern sogar zwei Ozonkomplexe zu binden, macht den Beobachter immerhin stutzig: Er stimmt zwar Molinari zu, indem er die Existenz einer zweiten doppelten Bindung im Cholesterin anerkennt, meint aber immerhin (S. 633): „... Especially considering the sluggish manner, in which the complete ozonisation of the cholesterol derivates has been found to take place, compared with the readiness, with wich the original double linking reacts, it may be, therefore, that the further action of ozon consists in the development of a bridge or cross linking or the opening of a polymethylene ring present in the cholesterol molecule."

---

[1]) O. Diels, Zur Kenntnis des Cholesterins. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **41**, 2596, 1908.

[2]) Ch. Dorée, Contributions to the Chemistry of the Cholesterol etc. Journ. of Chem. Soc. **45**, 1. Hälfte, 638, 1909. Frühere Mitteilungen Dorée und Gardner, Proc. chem. Soc. **24**, 172, 1908.

Von den Beobachtungen von Harries[1]) war bereits in der Einleitung die Rede.

Was nun unsere eigenen Versuche betrifft, bezogen sich dieselben auf das Ozonanlagerungsvermögen des Cholesterins, Dihydrocholesterins und Cholestans.

Zur Herstellung des Ozons diente eine Batterie von 7 Siemensschen Ozonisatoren, in denen die Elektrizität mit Hilfe eines Transformators bei einer Spannung von 8000 Volt zur Wirkung gelangte. Das resultierende Ozon-Sauerstoffgemenge wurde so auf einen Gehalt von 8 bis 9⁰/₀ Ozon gebracht[2]). Dasselbe passierte in langsamem Strome eine Chloroformlösung der zu ozonisierenden Substanz.

Um alle Verluste zu vermeiden, nahmen wir die Ozonisierung direkt in demselben Gefäß (kleiner Erlenmeyer-Kolben) vor, in dem später die Wägung des Ozonids erfolgte. Zu diesem Zwecke war das Gefäß mit zweierlei eingeschliffenen, austauschbaren Aufsätzen versehen: Der eine ermöglichte die Anschaltung an die Quecksilberverschlüsse des Ozonapparates, der andere, mit einem Glashahne versehene, die Evakuation, die zum Zwecke der Trocknung der Ozonide im Wasserbade bei 60 bis 100° vorgenommen wurde.

Wir möchten noch erwähnen, daß wir uns bei der scharfen Trocknung der Ozonide im erwärmten Vakuum in der Regel mit einer annähernden Gewichtskonstanz begnügen mußten und selbst nach langer Zeit meist keine absolute Konstanz zu erzielen vermochten. Die Behauptung von Molinari und Fenaroli, daß man im Vakuum bei 60° längstens innerhalb einer halben Stunde Gewichtskonstanz erziele, vermochten wir durchaus nicht zu bestätigen. Schon der stechende Geruch der Ozonide macht ihre, wenn auch geringe Flüchtigkeit oder Zersetzlichkeit plausibel. Dorée meint freilich, daß die Ozonide dieser Gruppe bei Temperaturen unter 80 bis 85° stabil zu sein scheinen; ob dies aber tatsächlich der Fall ist, möchten wir dahingestellt sein lassen.

---

[1]) Harries, l. c.

[2]) Näheres über die im hiesigen Institute beim Arbeiten mit Ozon angewandte Apparatur findet sich in einer Arbeit von H. Brach, Chemikerzeitung 1912.

	Gewicht der zu ozonisierenden Substanz	Dauer der Ozon-Einleitung	Trocknung i. Vakuum			Gewichtszunahme		Die Ozonaufnahme pro Molekül entspricht molekülen Ozon O_3
			bei Temperatur	Dauer derselben	Druck	absolut	pro g Substanz	
	g	Stunden	°C	Stunden	mm	g	g	
				Cholesterin				
a	0,5005	4	60	1½	?	0,182	0,364	2,9 O_3 = 2,2 O_4
b	0,5025	5	60	4¼	?	0,136	0,271	2,2 O_3 = 1,7 O_4
c	0,5012	2	60	1¾	?	0,094	0,188	1,5 O_3 = 1,1 O_4
d	0,5095	5½	100	8	?	0,252	0,494	4,0 O_3 = 3,0 O_4
e	1,0	10	100	11	120	0,420	0,420	3,4 O_3 = 2,5 O_4
f	0,500	10	100	7	40	0,210	0,420	3,4 O_3 = 2,5 O_4
				Dihydrocholesterin				
a	0,5010	2	60	2¾	?	0,114	0,228	1,8 O_3 = 1,4 O_4
a'	0,505	5	60	5	?	0,161	0,322	2,6 O_3 = 1,9 O_4
b	0,5065	2½	60	4½	?	0,125	0,247	2,0 O_3 = 1,5 O_4
c	0,500	10	100	5	40	0,174	0,347	2,8 O_3 = 2,1 O_4
d	0,500	10	100	7	40	0,269	0,538	4,3 O_3 = 3,2 O_4
				β-Cholestan.				
a	0,4985	2½	60	4	?	0,090	0,181	1,5 O_3 = 1,1 O_4
b	0,4397	10	100	7	30	0,226	0,515	4,2 O_3 = 3,1 O_4
c	0,500	10	100	7	20	0,289	0,578	4,8 O_3 = 3,6 O_4

Werfen wir nun einen Blick auf unsere Versuchsergebnisse; aus der letzten Kolonne unserer Tabelle können wir direkt herauslesen, wie viel Moleküle Ozon pro Molekül addiert worden sind.

Wir hatten erwartet, entsprechend den so präzis lautenden Literaturangaben, für das Cholesterin eine Addition von genau 2 Moleküle Ozon konstatieren zu können; für das Dihydrocholesterin, bei dem die doppelte Bindung der Vinylgruppe in Verlust geraten ist, stand jedoch nur die Addition eines Moleküls Ozon zu gewärtigen. Beim Cholestan waren wir neugierig zu erfahren, ob es auch noch befähigt sei, ein Molekül Ozon an eine maskierte doppelte Bindung zu addieren, oder ob es gar kein Ozon mehr aufzunehmen befähigt sei. War ja doch bei seiner Darstellung eine sehr energische Reduktionsprozedur mit Natrium und Amylalkohol in der Siedehitze in Anwendung gelangt; es war also von vornherein gar nicht unwahrscheinlich, daß auch die „maskierte Doppelbindung“ dabei abgesättigt worden sei.

Wie verhält sich nun die Sache in Wirklichkeit?

Tatsächlich brachten uns unsere Beobachtungen eine große Überraschung, insofern keine unserer Erwartungen sich als zutreffend erwies:

Das Cholesterin vermochte 1,5 bis 4,0 Mol O_3, das Dihydrocholesterin 1,8 bis 4,3 Mol O_3, das Cholestan 1,5 bis 4,8 Mol O_3 aufzunehmen. Diese drei Verbindungen erwiesen sich also der Ozonaufnahme gegenüber als praktisch gleichwertig, und diese erschien im wesentlichen durch die Dauer der Ozoneinwirkung bedingt.

Man wird zu beachten haben, daß unsere Vorgänger teilweise mit außerordentlich viel geringeren Ozonmengen gearbeitet haben als wir; (unser Gasgemenge enthielt 8 bis 9 % Ozon, dasjenige von Dorée nur 1 %). Man konnte also daran denken, daß hier vielleicht ähnliche Verhältnisse vorlagen wie bei der Bromeinwirkung: Bei mäßiger Bromeinwirkung erfolgt, wie wir gesehen haben, die Addition des Cholesterins in durchaus gesetzmäßiger Weise; die langdauernde Einwirkung eines großen Bromüberschusses dagegen führt zur Bildung von höchst unübersichtlichen Bromsubstitutionsprodukten. Die Beobachtungen von Molinari und Dorée, deren objektive Richtigkeit anzuzweifeln wir weder eine Veranlassung noch eine Berechtigung haben, zeigen ja tatsächlich, daß auch bei der Einwirkung geringerer Ozonmengen die Anlagerung mit einer gewissen Regelmäßigkeit erfolgt: Zunächst erfolgt selbstverständlich die typische Anlagerung an die Vinylgruppe des Cholesterins, und es mag wohl sein, daß jene Molekularkonfiguration, die beim Dihydrocholesterin Anlaß zur lockeren, leicht dissoziablen Anlagerung eines Brommoleküls bietet, ohne die Charaktere einer echten doppelten Bindung zu besitzen, auch zur Anlagerung eines zweiten Ozonmoleküls disponiert.

Wenn wir aber weiterhin sehen, daß nicht nur das Cholesterin, sondern auch sein Grenzkohlenwasserstoff, das β-Cholestan, ohne irgendwelche scharfe Grenzen auch 3, 4 und vielleicht sogar noch mehr Ozonmoleküle in sich aufzunehmen vermag, so werden wir keinen Augenblick daran zweifeln, daß es sich hier um sekundäre Veränderungen im Molekül handle, sei es im Sinne einer Oxydation, sei es aber im Sinne einer Sprengung hydroaromatischer Komplexe und der Neubildung doppelter Bindungen. Es sind dies Vorgänge, auf deren Möglichkeit bereits Dorée hingewiesen hat (s. o.).

Wenn also Molinari[1]) behauptet, „die Ozonzahl eigne

[1]) Molinari, l. c.

sich besser als irgendeine andere Reaktion dazu, die Anzahl der wahren, doppelten Bindungen in den organischen Verbindungen festzustellen", so mag dies immerhin für große Gebiete der Chemie seine Richtigkeit haben. Doch gerade für das Cholesterin und seine Gruppe trifft es sicherlich nicht zu. Im Gegenteil erscheinen hier Versuche, eine „Ozonzahl" abzuleiten, unserer Meinung nach nur irreführend und dürfen die vermeintlichen „Ozonzahlen" des Cholesterins und seiner Derivate durchaus nicht den Rang exakter chemischer Konstanten für sich in Anspruch nehmen.

So gelangen wir denn zu der Schlußfolgerung unserer Untersuchung, daß die Existenz einer zweiten echten doppelten Bindung im Cholesterinmolekül weder durch katalytische Wasserstoffanlagerung, noch durch Halogenanlagerung, noch aber endlich durch Ozonanlagerung sichergestellt werden konnte. Es erscheint also vorderhand wenigstens durchaus nicht unwahrscheinlich, daß das Cholesterinmolekül außer den zwei bereits ermittelten noch zwei weitere Ringschlüsse, im ganzen also ein Vierringsystem[1]) in sich birgt.

Zusammenfassung.

1. Angesichts des Umstandes, daß die von Windaus aufgestellte Cholesterinformel

```
CH3>CH.CH2.CH2—C11H17
CH3              /     \
               CH       CH
              /  \     /  \
           CH2    CH       CH.CH3
            |      |        |
           CH2    CH2       CH
              \  /          //
               CH2       CH2
```

[1]) Es sei hier daran erinnert, daß schon vor Jahren Stein (ein Mitarbeiter von Windaus) den Versuch gemacht hat, eine Konstitutionsformel des Cholesterins zu konstruieren, die 4 hydrierte Sechsringe und den Seitenkomplex

```
       CH3
      /
—CH—CH = CH2
```

enthält. (Vgl. Jahrb. d. organ. Chem. 2, 261, 1907.) Die Zahl der sich hier ergebenden Möglichkeiten ist natürlich eine sehr große. Wir möchten

noch einen Komplex von 11 C unaufgeklärt läßt, und angesichts der Widersprüche, die in der Literatur in bezug auf die Existenz einer zweiten „maskierten" doppelten Bindung im Cholesterinmolekül vorliegen, wurde die für die Konstitutionsermittelung desselben so bedeutungsvolle Frage der **doppelten Bindungen im Cholesterinkomplex** einer erneuten Untersuchung unterworfen. Es ergaben sich hierbei dreierlei Wege: die Untersuchung der Anlagerung von **Wasserstoff**, von **Halogen** und von **Ozon**.

2. Die **Wasserstoffanlagerung** mit Hilfe von katalytischer Platinwirkung wurde nach dem vervollkommneten Verfahren der Hydrierung aromatischer Kerne von **Willstätter** und **Hatt** unter Anwendung eines Schüttelkolbens und einer Vorrichtung zur Messung des Wasserstoffverbrauches durchgeführt. Bei Hydrierung des **Cholesterins** wurde in 8 Versuchen für 1 g desselben ein H-Verbrauch von 47,4 bis 55,7, im Mittel 52,1 ccm H (0°, 760 mm) gefunden. Theoretisch berechnet man für Anlagerung von 2 Wasserstoffatomen pro Molekül 57,3 ccm H (0°, 760 mm).

---

nur erwähnen, daß z. B. eine der einfachsten derselben sich ergibt, wenn man den nicht aufgelösten Teil der neuen Formel von **Windaus** gewissermaßen durch das **Spiegelbild** des aufgelösten ergänzt, etwa:

```
              CH2     CH2
             /   \   /   \
C5H11 — CH        CH      CH2
         |        |       |
        CH2       CH      CH — CH2 = C27H46O.
           \     /  \    /
             CH       CH
 ............|........|............
             CH       CH
           /    \   /    \
        CH2       CH      CH — CH3
         |        |       |
        CH2       CH2     CH
           \     /       //
             CH2       CH2
             |
            (OH)
```

Man würde damit in das Bereich hydrierter Derivate des **Perylens** (R. **Scholl**) gelangen. Wie verfrüht allerdings Spekulationen dieser Art sind, liegt auf der Hand, und es ist vielleicht besser, der Versuchung des Ausspinnens derselben zu widerstehen, da dieselben allzu leicht einerseits ins Uferlose, andererseits auf falsche Wege leiten können.

Bei der Überführung von **Cholesten**

$$
\begin{array}{c}
C_5H_{11}-C_{17}H_{26}-CH{:}CH_2 \\
\diagup \quad \diagdown \\
CH_2 \quad CH_2 \\
\diagdown \quad \diagup \\
CH_2
\end{array}
$$

in **Cholestan**

$$
\begin{array}{c}
C_5H_{11}-C_{17}H_{26}-CH_2.CH_3 \\
\diagup \quad \diagdown \\
CH_2 \quad CH_2 \\
\diagdown \quad \diagup \\
CH_2
\end{array}
$$

wurde in 5 Versuchen für 1 g des ersteren ein Verbrauch von 51,4 bis 59,2, im Mittel 56,4 ccm H (0°, 760 mm) gefunden. Die Berechnung für die Anlagerung von 2 Wasserstoffatomen erfordert 60,0 ccm H (0°, 760 mm).

Es ergibt sich also in durchaus eindeutiger Weise, daß man bei beiderlei Hydrierungen selbst unter Anwendung sehr günstiger Versuchsbedingungen **nicht imstande ist, eine weitergehende Wasserstoffanlagerung zu erzielen, als dem Übergange einer Vinylgruppe in eine Äthylgruppe entspricht.**

Es ergab sich bei dieser Gelegenheit sowohl für das Dihydrocholesterin als auch für das Cholestan, das die **Liebermann-Burchhardtsche Farbenreaktion** der Cholesterinderivate keineswegs die Intaktheit der Vinylgruppe zur notwendigen Voraussetzung hat, wenngleich eine solche der Intensität der Reaktion in hohem Grade förderlich ist.

3. In bezug auf die **Halogenanlagerung** ergab sich die unerwartete Tatsache, daß das **Dihydrocholesterin**, trotz Mangels einer Vinylgruppe, noch befähigt ist, Brom in sich aufzunehmen, und zwar in annähernd demselben Ausmaße wie das Cholesterin. Die Bromaufnahme erfolgt jedoch in ersterem Falle unvergleichlich langsamer. Beim Versuche, das vermeintliche Bromadditionsprodukt des Dihydrocholesterins zu isolieren, wurde dieses letztere in unverändertem Zustande wiedergewonnen. Offenbar handelt es sich nur um eine **leicht dissoziable Anlagerung physikalisch-chemischer Natur,** nicht aber um die Absättigung einer echten doppelten Bindung.

4. Beim Vergleiche der **Ozonanlagerung** an das Cholesterin, Dihydrocholesterin und Cholestan erwiesen sich, wider

alles Erwarten und im Gegensatze zu den vorliegenden Literaturangaben, diese drei Verbindungen als praktisch gleichwertig: Das Cholesterin nahm 1,5 bis 4,0, das Dihydrocholesterin 1,8 bis 4,3, das Cholestan 1,5 bis 4,8 Mol O_3 auf, je nach Dauer und Intensität der Ozoneinwirkung. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß die protrahierte Ozoneinwirkung sekundäre Veränderungen im Molekül (sei es durch Oxydation, sei es durch Sprengung hydroaromatischer Komplexe) unter Ozonanlagerung herbeiführt. Die Meinung Molinaris, „die Ozonzahl eigne sich besser als irgendeine andere Reaktion dazu, die Anzahl der wahren doppelten Bindungen in den organischen Verbindungen festzustellen", hat somit für das Gebiet des Cholesterins und seiner Derivate sicherlich keine Gültigkeit, und können die Ozonzahlen hier keineswegs als exakte chemische Konstanten anerkannt werden.

5. Die Existenz einer zweiten doppelten Bindung im Cholesterinmolekül konnte also bisher weder durch Wasserstoff-, noch durch Halogen-, noch durch Ozonanlagerung sichergestellt werden. Es erscheint daher sehr wohl möglich, daß das Cholesterinmolekül außer den zwei bereits ermittelten Ringschlüssen noch zwei weitere solche, im ganzen also ein Vierringsystem in sich birgt.

Über ein vereinfachtes Verfahren zur Bestimmung der Oxyproteinsäurefraktion im Harne.

Von

Otto von Fürth.

(Unter Mitwirkung von Gustav Felsenreich.)

(Eingegangen am 1. März 1915.)

1. Einleitung.

Vor einigen Monaten hat R. Sassa[1]) in dieser Zeitschrift über ein auf meine Veranlassung ausgearbeitetes Verfahren zur Bestimmung der Oxyproteinsäure-Fraktion im normalen und pathologischen Harne berichtet, welches das Problem der quantitativen Ermittlung dieser Gruppe von Substanzen, soweit der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse es gestattet, in, wie ich glaube, exakter Weise löst. Die neue Methode unterscheidet sich von den älteren insbesondere dadurch, daß sie durch zweckmäßige Anwendung von Kieselgur die Hauptschwierigkeit der Oxyproteinsäurebestimmung, nämlich eine vollständige Abtrennung des Harnstoffes ohne gleichzeitige Einbuße an Proteinsäuren, überwindet.

Es geschieht dies in der Weise, daß der mit Schwefelsäure angesäuerte Harn nach Beseitigung der schwefelsauren Alkalisalze durch Alkohol (nach Gawinski) und nach Barytbehandlung zum Sirup eingeengt und dieser mit Kieselgur zu einem Pulver verrieben wird. Es kommt nun alles darauf an, dieses Pulver vollständig von alkohollöslichen Beimengungen, und zwar in erster Linie von Harnstoff zu befreien. Es kann dies nun in zweierlei Art geschehen: Man kann das Pulver mit immer wieder erneuerten

[1]) R. Sassa, Über die quantitative Bestimmung der Oxyproteinsäurefraktion im normalen und pathologischen Harne (ausgeführt unter Leitung von Otto von Fürth im Physiol. Inst. der Wiener Universität). Diese Zeitschr. 64, 195 bis 221, 1914.

Portionen von absolutem Alkohol oder Alkoholäther unter Rückflußkühlung so lange auskochen, bis die Harnstoffreaktion negativ geworden ist, was erst nach 5 bis 8maligem, je einstündigem Kochen erzielt wird. Oder aber das Pulver wird im Soxhletschen Apparate mit absolutem Alkohol erst 10 bis 20 Stunden extrahiert, dann noch einmal getrocknet, neuerdings verrieben und wiederum 5 bis 10 Stunden im Soxhlet extrahiert. Schließlich wird der ungelöste Rückstand mit Wasser ausgelaugt und in dieser „Barytfraktion“ der Gesamt-N sowie der durch Quecksilberacetat bei sodaalkalischer Reaktion fällbare „Oxyproteinsäure-N“ bestimmt.

Als Nachteil dieses Verfahrens muß nun zugestanden werden, daß es zeitraubend und kostspielig ist und an die Sorgfalt des Arbeiters ziemlich hohe Anforderungen stellt.

Ich habe mich nun, angesichts des Umstandes, daß eine bequeme Bestimmung der Oxyproteinsäurefraktion im Harne zweifellos als ein Bedürfnis sowohl klinischer als physiologisch-chemischer Laboratorien bezeichnet werden muß, nach Wegen umgesehen, um das Bestimmungsverfahren zu vereinfachen.

Ich überlegte nun, daß es ein großer Vorteil wäre, wenn man von vornherein den Harnstoff aus dem Harne beseitigen könnte. Denn die großen Harnstoffmassen sind es eben, die nicht nur die Oxyproteinsäurebestimmung so zeitraubend und kostspielig gestalten, sondern auch ein Moment der Unsicherheit in dieselbe bringen. Denn die Lösungsverhältnisse der Proteinsäuren werden in den harnstoffreichen Sirupen derart beeinflußt, daß die in reinem Alkohol ganz unlöslichen oxyproteinsauren Barytsalze nunmehr einen gewissen Grad von Löslichkeit aufweisen.

In welcher Weise kann nun eine Befreiung des Harnes vom Harnstoffe tatsächlich verwirklicht werden?

Wir verdanken Marshall[1]) die Kenntnis der Tatsache, daß es leicht gelingt, den Harnstoff im Harne durch ein in der Sojabohne enthaltenes Ferment, die „Soja-Urease“

---

[1]) E. K. Marshall, Journ. of Biolog. Chem. **14**, 283, 1913; **15**, 487, 495, 1913. Vgl. auch: R. H. A. Plimmer und R. F. Skelton, Biochem. Journ. **8**, 70 und D. D. van Slyke, G. Zacharias und G. E. Cullen (Rockefeller-Inst. New York), Deutsche med. Wochenschr. **1914**, 1219.

(Takeuchi), so vollständig zu Ammoniumcarbonat zu vergären, daß ein titrimetrisches (auf die Alkalescenzzunahme des Harnes basierendes) Harnstoffbestimmungsverfahren nach diesem Prinzipe ausgearbeitet werden konnte.

Ich habe nun den Versuch gemacht, die Oxyproteinsäurebestimmung im Harne dadurch zu vereinfachen und von ihren wesentlichen Fehlerquellen zu befreien, daß ich vor Abscheidung der „Barytfraktion" den Harnstoff beseitigte.

Es geschah dies in der Art, daß ich den Harn mit Soja-Urease vollständig vergären ließ. Sodann wurde das Ammoniumcarbonat durch Schwefelsäure in Ammonsulfat übergeführt, dieses aus dem zum Sirup eingeengten Harn durch Alkohol größtenteils beseitigt, der Rest aber durch Erwärmen mit Ätzbaryt entfernt. Nach Beseitigung des Barytüberschusses wurde durch Alkoholextraktion die Gesamtheit der alkohollöslichen Substanzen beseitigt und so schließlich die „Barytfraktion" i. e. die Fraktion der wasserlöslichen, alkoholunlöslichen Barytsalze, erhalten.

Von den Einzelheiten des Verfahrens soll später die Rede sein. Ich möchte nur vorausschickend bemerken, daß, während das Verfahren von Sassa zur präparativen Darstellung der Barytfraktion in großem Maßstabe ungeeignet erscheint, das neue Verfahren eine Anwendung auf beliebig große Harnmengen gestattet.

2. Vorversuche über Harnstoffvergärung mit Soja-Urease.

a) Eine Sojafermentlösung wurde nach dem Verfahren von Marshall[1]) bereitet: 50 g gepulverter Sojabohnen wurden mit $^1/_2$ l Wasser einige Stunden stehen gelassen und filtriert. Das Filtrat wurde mit 25 ccm $^n/_5$-HCl am Wasserbade auf 32° erwärmt und der sich gut absetzende Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat stellte eine Fermentlösung („A") dar. Die Alkalescenz derselben (gegen Methylorange) betrug für 20 ccm = 5,0 ccm $^n/_{10}$-Säure.

4 Proben einer 1%igen Harnstofflösung zu je 10 ccm (= 0,100 g Harnstoff) wurden nun mit je 2 ccm der Fermentlösung und mit 100 ccm H_2O versetzt. 2 Proben blieben bei Zimmertemperatur und 2 Proben im Brutofen über Nacht stehen. Sodann wurde mit Methylorange tritriert.

1. Probe	Zimmertemperatur	36,3 ccm $^n/_{10}$-Säure
2. „	„	34,5 „ „
3. „	Brutofen	35,6 „ „
4. „	„	34,6 „ „
	Mittel	35,2 ccm $^n/_{10}$-Säure.

[1]) Marshall, Journ. of Biolog. Chem. 14, 285, 1913.

Korrektur für die Alkalescenz der Fermentlösung = 0,5 ccm n/10-Säure,
also 35,2 — 0,5 = 34,7 ccm n/10-Säure.

Da 1 ccm n/10-Säure 0,003 g Harnstoff entspricht, bedeutet dies 0,104 g Harnstoff, statt, wie berechnet, 0,100 g Harnstoff.

b) Einfluß der Harnverdünnung auf die Vergärung. Je 50 ccm eines normalen Harnes (X) wurden mit 20 ccm einer frisch bereiteten Ureasenlösung versetzt: Probe A und A′ wurden auf 1000 ccm aufgefüllt, Probe B und B′ auf 500 ccm, Probe C und C′ auf 250 ccm, Probe D und D′ auf 100 ccm. Die Proben A, B, C, D wurden bei Zimmertemperatur, die Proben A′, B′, C′, D′ im Brutofen einen Tag lang belassen; dann wurde der zehnte Teil der Gesamtmenge (also 5 ccm Harn entsprechend) mit Methylorange titriert. Es ergab sich eine Alkalescenz: Für Probe A = 43,9, A′ = 44,1, B = 43,5, B′ = 42,7, C = 44,5, C′ = 43,7, D = 41,2, D′ = 43,6 ccm n/10-Säure.

Es erschien also für den Endeffekt gleichgültig, ob der Harn auf das 2fache oder 20fache verdünnt worden war.

Es wurden ferner je 10 ccm eines anderen Harnes mit 2 ccm einer frischen Fermentlösung A) unverdünnt, B) mit Zusatz von 10 ccm Wasser, C) mit 20, D) mit 30, E) mit 40 ccm Wasser einen Tag im Brutofen belassen. Der Titrationswert für 5 ccm Harn betrug für A = 33,7, B = 34,3, C = 34,9, D = 34,5, E = 35,1 ccm n/10-Säure.

c) Einfluß der Fermentkonzentration auf die Vergärung. Je 50 ccm des Harnes A wurden A) mit 20, B) mit 10, C) mit 5, D) mit 2, E) mit 1 ccm einer Urease-Fermentlösung versetzt und sodann jede Probe mit Wasser auf 200 ccm aufgefüllt. Nach 2tägigem Stehen im Brutofen wurden je 20 ccm jeder Probe (entsprechend 5 ccm Harn) titriert: Es ergab sich eine Alkalescenz für A = 43,1, B = 43,9, C = 42,3, D = 35,1, E = 23,4 ccm n/10-Säure.

d) Wirksamkeit eines gereinigten Ureasen-Fermentes. 100 ccm einer Soja-Ureasenlösung wurden mit dem doppelten Volumen Alkohol gefällt. Der Niederschlag wurde im 100 ccm Wasser suspendiert (Suspension A) und nach einigem Stehen filtriert (Filtrat B).

Je 10 ccm 1%iger Harnstofflösung wurden mit 100 ccm Wasser und seinem Tropfen Toluol versetzt; dazu in Probe a) und b) 5 ccm native Ureasenlösung, in c) und d) 5 ccm der Suspension „A“, in e) und f) 5 ccm des Filtrates „B“. Nach 2 Tagen im Brutofen ergab sich eine Alkalescenz: a) 36,9, b) 35,9, c) 36,9, d) 37,5, e) 35,4, f) 35,3.

Also nicht nur die Suspension der alkoholischen Fällung der Fermentlösung, sondern auch das wässerige Filtrat derselben hatte volle Wirksamkeit behalten.

3. Verfahren zur Bestimmung der Oxyproteinsäure-Fraktion des Harnes.

Ich teile nun jenes Verfahren mit, das sich mir nach mannigfachen Versuchen zur Bestimmung der Oxyproteinsäurefraktion des Harnes als geeignet erwiesen hat:

a) **Bereitung der Sojafermentlösung.** Je 100 g zerkleinerter, geschälter Sojabohnen werden mit 500 ccm destillierten Wassers aufgeschwemmt, 2 Stunden stehen gelassen, mit 50 ccm $^n/_5$-HCl versetzt, am Wasserbade auf 40° erwärmt und filtriert. Das Filtrat wird mit dem doppelten Volumen 95%-igem Alkohol gefällt, der Niederschlag abfiltriert, mit wenig Wasser verrieben, nach einer Stunde filtriert und das Filtrat im Meßkolben auf 100 ccm aufgefüllt.

100 ccm dieser Fermentlösung entsprechen 100 g Bohnen.

b) **Vergärung des Harnes.** Je 100 ccm des Harnes werden mit 10 ccm der frisch bereiteten Fermentlösung auf 200 ccm aufgefüllt, mit etwas Toluol versetzt und über Nacht im Brutschranke stehen gelassen; dann werden 10 ccm der Flüssigkeit (= 5 ccm des Harnes) mit einer Pipette in ein Kölbchen übertragen, mit 100 ccm Wasser versetzt und nach Hinzufügen von etwas Methylorange-Indicator titriert.

Die Titration muß, wenn die Vergärung eine vollständige war, für normalen menschlichen Mischharn mindestens 33 ccm $^n/_{10}$-Säure ergeben[1]).

Man überzeugt sich sodann, indem man eine mehrfach verdünnte Harnprobe mit neuem Ferment versetzt und noch einige Stunden im Brutschranke stehen läßt, ob die Alkalescenz keine weitere Zunahme erfahren hat, die Vergärung also eine vollständige war; eventuell wird dieselbe durch Wasser- und Fermentzusatz zu Ende geführt.

c) **Überführung des Ammoniumcarbonats in Ammoniumsulfat.** Der vergorene Harn wird durch Zusatz 10%iger Schwefelsäure gegen Lackmuspapier neutral gemacht und in einer Schale zum dicken Sirup eingedampft.

d) **Auslaugen mit Alkohol.** Der Harnsirup wird mit etwas 95%igem Alkohol verdünnt und mit so viel Schwefelsäure versetzt, daß Kongopapier sich blau färbt; jetzt wird mehr Alkohol hinzugefügt, die Salzmasse gut durchgerührt, die braune Flüssigkeit durch ein Filter abgegossen, dann neuer Alkohol aufgegossen und der Vorgang so lange wiederholt, bis

[1]) Es entspricht dies für 1 l Harn $33 \times 200 \times 0{,}003 = 19{,}8$ g Harnstoff (in Wirklichkeit weniger, wegen der nativen Alkalescenz des Harnes). Folin fand bei Analyse von 30 normalen Harnen im Mittel 20,8 g Harnstoff im Liter (Amer. Journ. of Physiol. 13, 45, 1905), was für je 5 ccm Harn einer Alkalescenz von 34,7 ccm entsprechen würde.

der Alkohol farblos abfließt und nur eine schwach gefärbte Salzmasse auf dem Filter zurückbleibt. Das alkoholische Filtrat wird sodann mit Ammoniak alkalisch gemacht und am Wasserbade in einer Schale eingedampft.

e) Vertreibung des Ammoniaks mit Baryt. Nunmehr werden 100 ccm gesättigten Barytwassers (für je 100 ccm Harn) hinzugefügt und eventuell nach Zusatz von Wasser so lange gekocht, als das Entweichen alkalischer Dämpfe mit Lackmuspapier nachweisbar ist. Zum Schlusse überzeugt man sich, daß ein Barytüberschuß vorhanden ist, indem man sieht, ob ein mit dem Glasstabe herausgenommener Tropfen mit Phenolphthalein getränktes Papier noch rot färbt.

f) Beseitigung des Barytüberschusses. Es wird Kohlensäure in die Schale eingeleitet, aufgekocht, heiß filtriert, mit heißem Wasser nachgewaschen und das Filtrat mit Kieselgur vollständig zur Trockne gebracht.

g) Beseitigung alkohollöslicher Substanzen. Der Rückstand wird zusammengekratzt, in einen Kolben übertragen, 2 Stunden lang mit 95%igem Alkohol unter Rückfluß ausgekocht, der Alkohol beseitigt, der ungelöste Rückstand mit Wasser ausgekocht, filtriert. Das Filtrat wird in einem Meßkolben auf ein bestimmtes Volumen gebracht und in einem aliquoten Teile der Stickstoff bestimmt („Baryt-N").

h) Quecksilberacetat-Fällung. Ein anderer aliquoter Teil wird mit wässeriger 20%iger Mercuriacetatlösung und 10%iger Sodalösung abwechselnd so lange versetzt, bis ein dauernd gelb oder rötlichgelb gefärbter Niederschlag auszufallen beginnt. Dieser wird abfiltriert, ausgewaschen und samt dem Filter kjeldahlisiert („Oxyproteinsäure-N").

4. Versuche.

Bei den nachfolgend mitgeteilten Versuchen ist im wesentlichen der oben angeführte Gang eingehalten worden. Einzelne Abweichungen von demselben sind im Texte ersichtlich.

Versuch 1.

Dieser und die Mehrzahl der weiteren Versuche wurden an einem menschlichen (mit Toluol konservierten) Mischharne ausgeführt, in dem Sassa[1]) mit großer Sorgfalt den Oxyproteinsäure-N und Baryt-N be-

[1]) l. c.

stimmt hatte. Der Gesamt-N darin betrug 11,088 g im Liter, der Oxyproteinsäure-N 0,526 g (= 4,74 % des Gesamt-N), der Rest-N 0,160 (= 1,44 % des Gesamt-N), der Baryt-N 0,526 + 0,160 = 0,680 g (= 6,18 % des Gesamt-N).

Von diesem Harne wurde 1 l mit 100 ccm frisch bereiteter Ureasenlösung (siehe 3a) versetzt und auf 4 l aufgefüllt. Nach 2 Tagen im Brutofen, ergab die Titration von 20 ccm (entsprechend 5 ccm Harn) 34,0 bzw. 33,1, im Mittel 33,5 ccm $^n/_{10}$-Säure. Nach weiterem Zusatze von 50 ccm der Fermentlösung und weiteren 6 Stunden im Brutufen 33,9 bzw. 33,1, im Mittel 33,5 ccm $^n/_{10}$-Säure.

Weiterer Vorgang nach dem Schema. Nur in bezug auf die Beseitigung alkohollöslicher Substanzen aus dem Kieselgurpulver wurde eine Modifikation eingeschoben, insofern Fraktion a) 1 Stunde mit absolutem Alkohol, b) $3^1/_2$ Stunden mit absolutem Alkohol ausgekocht wurde, c) erst 1 Tag mit Alkoholäther (2 Teile absolutem Alkohol + 1 Teil Äther) in der Kälte, dann 2 Stunden mit absolutem Alkohol in der Siedehitze extrahiert.

Für die schließlichen Stickstoffbestimmungen dienten Fraktionen entsprechend je 50 ccm Harn.

Es ergab sich:

Baryt-N.

a) 0,440 g N im Liter Harn = 3,97 % des Gesamt-N
b) 0,476 g N " " " = 4,29 % " "
c) 0,523 g N " " " = 4,72 % " "

Mittel **4,33** % des Gesamt-N.

Oxyproteinsäure-N.

a) 0,395 g N im Liter Harn = 3,56 % des Gesamt-N
b) 0,412 g N " " " = 3,72 % " "

Mittel **3,64** % des Gesamt-N.

Versuch 2.

1 l Mischharn (Sassa) wurde mit 100 ccm frisch bereiteten Soja-Fermentes auf 2 l aufgefüllt und unter Toluolzusatz 1 Tag im Brutofen belassen. Die Titration für 10 ccm Flüssigkeit (= 5 ccm Harn) ergab sodann 36,0 bzw. 35,4, im Mittel 35,7 ccm $^n/_{10}$-Säure.

Weitere Verarbeitung nach dem Schema. Die Beseitigung alkohollöslicher Substanzen geschah auch hier wiederum in Parallelversuchen: bei den Proben a) und b) wurde das Kieselgurpulver 5 Stunden mit absolutem Alkohol ausgekocht, bei den Proben c) und d) erst 1 Tag mit Alkohol-Äther in der Kälte vorbehandelt, sodann 2 Stunden mit absolutem Alkohol ausgekocht. Es ergab sich:

Baryt-N.

a) 0,567 g N im Liter Harn = 5,12 % des Gesamt-N
b) 0,530 g N „ „ „ = 4,78 % „ „
c) 0,510 g N „ „ „ = 4,60 % „ „
d) 0,488 g N „ „ „ = 4,40 % „ „

Mittel 4,72 % des Gesamt-N.

Oxyproteinsäure-N.

a) 0,351 g N im Liter Harn = 3,17 % des Gesamt-N
b) 0,406 g N „ „ „ = 3,66 % „ „

Mittel 3,42 % des Gesamt-N.

Versuch 3.

2 Portionen Mischharn (Sassa) zu je 200 ccm wurden unter Zusatz von 20 ccm Fermentlösung unter Toluolzusatz unverdünnt in den Brutofen gestellt. Die Titration nach 1 Tage ergab für 5 ccm Flüssigkeit 33,0 ccm $^{n}/_{10}$-Säure, nach 4 Tagen 34,4 ccm $^{n}/_{10}$-Säure.

Vorgang nach dem Schema:

Baryt-N.

a) 0,555 g N im Liter Harn = 5,01 % des Gesamt-N
b) 0,607 g N „ „ „ = 5,47 % „ „

Mittel 5,24 % des Gesamt-N.

Oxyproteinsäure-N.

c) 0,276 g N im Liter Harn = 2,49 % des Gesamt-N.

Mittel 2,49 % des Gesamt-N.

Versuch 4.

400 ccm Mischharn (Sassa) wurden mit 40 ccm Ferment auf 800 ccm Wasser aufgefüllt und unter Toluolzusatz in den Brutofen gestellt. Die Titration ergab nach einigen Tagen für 5 ccm Harn 34,4 bzw. 34,7, im Mittel 34,5 ccm $^{n}/_{10}$-Säure.

Die weitere Verarbeitung wurde zunächst in schematischer Weise vorgenommen. Um jedoch festzustellen, ob die Einwirkung des Barytwassers bei Siedehitze bei Austreibung des Ammoniaks (3 e) für das Endresultat von Bedeutung sei, wurden Parallelproben in der Weise angestellt, daß der nach Eindampfen des alkoholischen Filtrats (3 d) mit Ammoniak hinterbliebene Rückstand in 400 ccm gesättigten Barytwassers aufgeschwemmt, sodann aber in mehrere Portionen geteilt wurde: Aus der Portion a) wurde in schematischer Weise ohne weitere Vorsicht das Ammoniak durch Kochen ausgetrieben, aus den Portionen b) und c) jedoch im Vakuum bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur. Die weitere Verarbeitung erfolgte in schematischer Weise.

Baryt-N.

a) Barytbehandlung bei 100°: 0,537 g N im Liter Harn = 4,84 % des Ges.-N
b) „ unter 50°: 0,527 g N „ „ „ = 4,75 % „ „
c) „ „ 50°: 0,548 g N „ „ „ = 4,94 % „ „

Mittel 4,84 % des Gesamt-N.

Oxyproteinsäure-N.

a) Barytbehandlung bei 100°: 0,306 g N im Liter Harn = 2,76 % des Ges.-N
b) „ unter 50°: 0,389 g N „ „ „ = 3,50 % „ „
Mittel 3,10 % des Gesamt-N.

Versuch 5.

(Ausgeführt von G. Felsenreich.)

Frischer Mischharn. Der Gesamt-N in 1 l wurde durch Kjeldahl-Doppelbestimmungen mit 10,92 g N bestimmt.

1 l Mischharn wurde mit 100 ccm frischen Soja-Ferments auf 2 l aufgefüllt und unter Toluolzusatz einige Tage im Brutofen belassen. Die Titration für 10 ccm Flüssigkeit (= 5 ccm Harn) ergab 35,0 ccm $^n/_{10}$-Säure.

Schematischer Vorgang. Jedoch wiederum wie in Versuch 4 Parallelversuche in bezug auf die Austreibung des Ammoniaks mit Barytwasser bei Siedehitze (Probe a und b) und im Vakuum (Probe c und d).

Die einzelnen Fraktionen für Bestimmung des Baryt-N und Oxyproteinsäure-N wurden meist derart gewählt, daß jede 50 ccm Harn entsprach.

Baryt-N.

a) Barytbehandlung bei 100°: 0,532 g N im Liter Harn = 4,87 % des Ges.-N
b) „ „ 100°: 0,518 g N „ „ „ = 4,74 % „ „
c) „ unter 50°: 0,567 g N „ „ „ = 5,19 % „ „
d) „ „ 50°: 0,488 g N „ „ „ = 4,46 % „ „
Mittel 4,81 % des Gesamt-N.

Oxyproteinsäure-N.

a) Barytbehandlung bei 100°: 0,328 g N im Liter Harn = 3,00 % des Ges.-N
b) „ „ 100°: 0,398 g N „ „ „ = 3,64 % „ „
c) „ unter 50°: 0,325 g N „ „ „ = 2,97 % „ „
d) „ „ 50°: 0,315 g N „ „ „ = 2,88 % „ „
Mittel 3,12 % des Gesamt-N.

5. Erörterung der Versuchsresultate.

Aus dem Versuch 5 sowie aus Versuch 4 geht hervor, daß es für das Endresultat gleichgültig ist, ob die Austreibung des Ammoniaks durch Barytwasser bei Siedehitze oder aber im Vakuum bei niederer Temperatur erfolgt. Man hat sonach keine Trübung der Versuchsresultate durch die allzu starke hydrolytische Wirkung des Ätzbaryts in der Siedehitze zu befürchten.

Gleichzeitig lehren diese beiden Versuche, die von zwei verschiedenen Beobachtern an zwei verschiedenen normalen

Mischharnen mit besonderer Sorgfalt ausgeführt worden sind, durch die vollständige Übereinstimmung der Mittelwerte:

	Versuch 4 Fürth:	Versuch 5 Felsenreich:
Baryt-N	4,84 % des Ges.-N	4,81 % des Ges.-N
Oxyproteinsäure-N .	3,10 % " "	3,12 % " "

daß die mit der neuen Methode erhaltenen Resultate einen hohen Grad von Konstanz aufweisen.

Überblicken wir nunmehr die aus allen unseren Versuchen gewonnenen Mittelwerte:

	Baryt-N	Oxyproteinsäure-N
Versuch 1 . . .	4,33 % des Ges.-N	3,64 % des Ges.-N
" 2 . . .	4,72 % " "	3,42 % " "
" 3 . . .	5,24 % " "	2,49 % " "
" 4 . . .	4,84 % " "	3,10 % " "
" 5 . . .	4,81 % " "	3,12 % " "
Mittel	4,79 % des Ges.-N	3,15 % des Ges.-N

Nun hat Sassa nach seinem Verfahren gefunden, daß die Werte für den Baryt-N und den Oxyproteinsäure-N für den normalen menschlichen Harn einen sehr konstanten Prozentsatz des Gesamtstickstoffs ausmachen, und zwar fand er für den Baryt-N 5,9 bis 6,3 % (Mittel 6,00 %) und für den Oxyproteinsäure-N 4,3 bis 4,7 % (Mittel 4,53 %)[1].

Die Werte von Sassa, die den älteren Angaben von Ginsberg[2]) und von Gawinski[3]) nahestehen, sind also wesentlich höher als die meinigen.

Der sich hier ergebende Widerspruch ist jedoch wohl nur ein scheinbarer: Man hat nämlich zu beachten, daß die Barytfraktion Sassas unter Vermeidung jedes hydrolytischen Eingriffes dargestellt worden ist, und daß dieselbe noch 24 bis 34 % (Mittel 27,8 %) von ihrem Stickstoff (also $^1/_4$ bis $^1/_3$) in durch Säure- oder Alkaliwirkung hydrolysierbarer Form enthielt[4]).

Bei meinem Verfahren dagegen war der Harn im Verlaufe des Darstellungsverfahrens der Barytfraktion zweierlei hydro-

[1]) Sassa, l. c. S. 217 u. 218.
[2]) W. Ginsberg, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 411, 1907.
[3]) Gawinski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 454, 1908/09.
[4]) Sassa, l. c. S. 209.

lytischen Agenzien ausgesetzt: der Wirkung des Ureasenfermentes sowie derjenigen des Ätzbaryts. Wir werden also annehmen dürfen, daß leicht hydrolysierbare N-haltige Komplexe, die bei dem Verfahren nach Sassa in die Barytfraktion übergehen, bei unserem Verfahren im vorhinein abgespalten werden.

Machen wir eine Überschlagsrechnung auf Grund der Mittelwerte Sassas, so wären von den 6,00% des Gesamtstickstoffs, die auf die Barytfraktion entfallen, 27,8%, i. e. 1,67% des Gesamt-N hydrolysierbarer „Polypeptid-N". Subtrahieren wir denselben von den Werten Sassas, so ergibt sich der Baryt-N 6,00 — 1,67 = 4,33% und der Oxyproteinsäure-N 4,53 — 1,67 = 2,86%; das sind demnach Werte, die den meinigen recht nahestehen.

Die Differenz zwischen dem Baryt-N und dem Oxyproteinsäure-N, i. e. der Rest-N ist bei meinen Mittelwerten (4,79% — 3,15% = **1,64%**) ungefähr gleich groß wie bei Sassa (6,00% — 4,53% = **1,47%**).

Der Unterschied zwischen den Resultaten Sassas sowie der älteren Autoren und den meinigen dürfte also im wesentlichen darauf beruhen, daß gewisse hydrolytisch abspaltbare Komplexe bei meinem Verfahren dem Übergange in die Baryt- bzw. Oxyproteinsäurefraktion entgehen, bei Sassas Vorgang und den älteren Methoden dagegen noch den Weg in dieselbe finden.

Mein Verfahren ist zweifellos das weitaus eingreifendere und weniger schonende. Doch dürfte dies vom Standpunkte des Physiologen oder Pathologen aus kaum ein Nachteil sein, da denselben ja eben in erster Linie jene resistenten Stoffwechselprodukte interessieren, die den hydrolytischen Kräften des intermediären Stoffwechsels erfolgreich Widerstand geleistet haben und von denen man daher auch mit Recht erwarten darf, daß sie anderen hydrolytischen Einwirkungen in vitro Widerstand leisten.

Übrigens bringen die vorstehenden Betrachtungen so recht die Tatsache zum Bewußtsein, wie höchst unvollkommen wir über jene Gruppe von Substanzen, die man unter dem Sammelbegriffe der „Oxyproteinsäuren" zusammenzufassen pflegt, orientiert sind. Es liegt dies wohl in erster Linie an dem Um-

stande, daß die präparative Darstellung größerer Mengen dieser Substanzen nach den bisher vorliegenden Methoden auf sehr große Schwierigkeiten gestoßen ist. Wer selbst einmal versucht hat, aus einem auch nur einigermaßen größeren Harnquantum die „Oxyproteinsäurefraktion" abzutrennen, weiß, mit welchem Zeit- und Geldaufwande dies verbunden war. Von einer „Reindarstellung" kann ja bisher bei so mangelhaft charakterisierten Substanzen leider überhaupt nicht die Rede sein. Ich erhoffe mir nun von der neuen Methode auch nach der chemisch-präparativen Richtung einen gewissen Fortschritt, insofern sie ohne übergroßen Aufwand von Zeit und Kosten die Verarbeitung größerer Harnmengen gestattet. So habe ich ohne besondere Schwierigkeiten bereits mit Hilfe eines Laboranten 100 l normalen Menschenharnes nach der neuen Methode auf „Barytfraktion" verarbeitet und hoffe, gelegentlich über den weiteren Fortgang dieser Untersuchungen berichten zu können.

Zusammenfassung.

Dem kürzlich veröffentlichten, auf meine Veranlassung ausgearbeiteten Verfahren von Sassa zur Bestimmung der Oxyproteinsäurefraktion des Harnes haftet der Mangel an, daß dasselbe zeitraubend und kostspielig ist, insofern dabei der Harnstoff durch langdauernde Soxhletextraktion oder sehr oft wiederholtes Auskochen mit absolutem Alkohol oder Alkohol-Äther beseitigt werden muß.

Ich habe nun versucht, das Verfahren der Oxyproteinsäurenbestimmung dadurch zu verbessern und zu vereinfachen, daß ich den gesamten Harnstoff des Harnes durch Vergärung mit Soja-Urease (i. e. eines aus Sojabohnen bereiteten Fermentes) von vornherein vollständig beseitigte. Das entstandene Ammoniumcarbonat wird in Ammoniumsulfat übergeführt, dieses größtenteils mit saurem Alkohol, der Rest durch Ätzbaryt in der Wärme, der Barytüberschuß durch Kohlensäure beseitigt, das Filtrat mit Kieselgur zur Trockne gebracht. Sodann werden alle alkohollöslichen Substanzen durch 2stündiges Auskochen mit Alkohol beseitigt. So erhält man schließlich die Fraktion der wasserlöslichen, alkoholunlöslichen Barytsalze („Barytfraktion"), deren Stickstoffgehalt bestimmt wird. Der daraus

durch Mercuriacetat bei sodaalkalischer Reaktion fällbare N gibt den „Oxyproteinsäure-N“.

In einer Reihe von Versuchen ergab sich für normalen Menschenharn der Baryt-N mit 4,3 bis 5,2, Mittel 4,8 % des Gesamt-N, der Oxyproteinsäure-N mit 2,5 bis 3,6, Mittel 3,1 % des Gesamt-N.

Nun hat aber Sassa, ebenso wie die älteren Untersucher, wesentlich höhere Werte gefunden: Baryt-N 5,9 bis 6,3 %, Oxyproteinsäure-N 4,3 bis 4,7 %.

Dieser Widerspruch findet seine Erklärung in dem Umstande, daß bei meinem Verfahren zweierlei hydrolytische Agenzien, nämlich das Sojaferment und das Barytwasser in der Wärme eingewirkt hatten, bei den älteren Methoden aber hydrolytische Eingriffe vermieden worden waren. Infolgedessen entgehen gewisse hydrolytisch abspaltbare Komplexe dem Übergange in die Barytfraktion, die früher darin mitbestimmt worden sind. Doch dürfte dies vom Standpunkte der physiologischen und pathologischen Harnuntersuchung kaum als Nachteil erscheinen, da insbesondere das Studium jener Stoffwechselendprodukte hier von Interesse ist, die den hydrolytischen Kräften des intermediären Stoffwechsels Widerstand geleistet haben, und denen daher auch eine größere Resistenz gegenüber hydrolytischen Einwirkungen in vitro zugemutet werden darf.

Beiträge zur Kenntnis der Alkaloidbildung in den Pflanzen.

I. Mitteilung.

Orientierende Untersuchungen über den Protein- und Nicotingehalt der Tabakspflanze während des Wachstums.

Von

H. Baggesgaard Rasmussen.

(Aus der Pharmazeutischen Lehranstalt Kopenhagen.)

(Eingegangen am 3. März 1915.)

Der Zweck dieser Arbeit ist, teils zu erfahren wie der Nicotingehalt der Tabakspflanze während des Wachstums wechselt, teils einen Überblick darüber zu gewinnen, inwiefern ein Zusammenhang zwischen dem Proteinstickstoffgehalt und dem Nicotingehalt während des Wachstums der Pflanze nachzuweisen ist[1]). In bezug auf letzteres Verhältnis ist die Untersuchung nur von orientierender Beschaffenheit.

Der Tabak ist im Sommer 1913 auf der Tystofte Versuchsstation gebaut worden. Der Boden war im Herbste des vorigen Jahres mit etwa 370 h/kg Stalldünger (etwa 2,8 h/kg N) und 180 h/kg Jauche (etwa 1,3 h/kg N) per Hektar gedüngt worden. Im Frühling wurden ferner 90 kg Chilisalpeter (etwa 13,5 kg N) und 360 kg Kaliumsulfat per Hektar hinzugeführt. Die stark gedüngten Sorten erhielten ferner 630 kg Chilisalpeter (etwa 94,5 kg N) per Hektar.

Die eingeernteten, von 20 verschiedenen Pflanzen als Durchschnittsproben herausgenommenen Blätter wurden getrocknet und analysiert.

---

[1]) Systematische Untersuchungen hierüber mit zuverlässigen Analysenmethoden sind bisher nicht durchgeführt worden. Über frühere Untersuchungen siehe besonders Kißling, Handbuch der Tabakkunde, Aufl. II, 1905, S. 70 und 148f.

Die Trocknung geschah in folgender Weise: 3 bis 4tägiges Trocknen an der Luft, darauf Trocknung bei etwa 45° im Trockenschrank, bis die Blätter so trocken waren, daß sie sich leicht pulverisieren ließen. Das gesiebte, von der größten Menge gröberer Nerven gereinigte Pulver wurde 2 Tage und 2 Nächte über P_2O_5 im Vakuum getrocknet. In dem so getrockneten Pulver wurde Totalstickstoff, Proteinstickstoff und Nicotin bestimmt.

Der Totalstickstoff wurde nach Kjeldahl-Gumning-Arnold durch Kochen mit H_2SO_4, K_2SO_4, CuO und HgO bestimmt.

Der Proteinstickstoff ist nach Stutzer bestimmt. Die pulverisierte Blattprobe wurde erst mit 100 ccm mit 1 ccm Essigsäure versetztem Alkohol ausgekocht. Darauf wurde der Rest mit Wasser behandelt und der Proteinstoff mit in Glycerin aufgeschlämmtem $Cu(OH)_2$ gefällt. Der Stickstoffgehalt des Niederschlags wurde wie vorhin bestimmt.

Ferner ist versuchsweise der „Basenstickstoff" in zwei von den Tabakssorten bestimmt worden. Die Bestimmung wurde in folgender Weise ausgeführt. Die alkoholischen und wässerigen Filtrate vom Proteinstoff wurden mit 5 g Schwefelsäure versetzt, auf dem Wasserbad bis auf 100 ccm eingedampft und durch Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wurde mit ein wenig 10%iger Schwefelsäure gewaschen und im Filter getrocknet, worauf der Stickstoffgehalt des Niederschlags wie vorhin bestimmt wurde. Vom gefundenen Stickstoffgehalt wurde der Stickstoffgehalt des Filters subtrahiert.

Das Nicotin ist durch Kieselwolframsäure nach einer von mir ausgearbeiteten sehr genauen Methode bestimmt[1]).

Das Resultat der Analysen ist aus der beigefügten Tabelle zu ersehen. „Protein-N", „Base-N" und „Nicotin-N" ist in Prozenten vom totalen N berechnet. Die letzte Zahlenreihe gibt den prozentischen Nicotingehalt des getrockneten Tabaks an. Schwach gedüngte Nicotiana rustica vom 5. VI., sowie schwach gedüngter ungarischer Tabak und Virginiatabak vom 2. VII. sind die Pflanzen selbst unmittelbar vor der Verpflanzung ins Feld. Während des Wachstums werden Blätter und Blütenknospen

[1]) Die Methode ist noch nicht veröffentlicht, wird aber im Laufe eines Monats in der Zeitschr. f. anal. Chem. dargelegt werden.

abgekniffen, so daß die Pflanze nur 10 bis 12 Blätter hatte. Von den Proben vom 29. VIII. sind „obere Blätter“ die vier obersten, „mittlere“ die vier mittelsten und „untere“ die vier untersten Blätter. Die Proben vom 5. X. sind der eingeerntete, nicht gegorene Tabak.

Schwach gedüngte Tabaksorten.

		Datum	Total-N %	Protein-N %	„Base-N“ %	Nicotin-N %	Prozent von Nicotin-N in „Base-N“ %	Nicotin in Tabak %
Nicotiana rustica		5. VI.	4,04	—	—	—	—	0,1
		24. VII.	5,06	62,4	11,0	5,9	54,0	1,75
	Obere Blätter	29. VIII.	5,67	34,9	27,0	17,8	65,9	5,80
	Mittlere Blätter	29. VIII.	4,74	32,7	37,5	21,5	57,3	5,89
		5. X.	4,25	28,0	45,2	26,75	59,3	6,57
Ungarischer Tabak		2. VII.	3,04	68,7	12,1	4,1	33,9	0,72
		24. VII.	4,81	58,1	7,7	3,5	45,4	0,97
	Obere Blätter	29. VIII.	5,80	49,3	18,6	2,7	14,5	0,76
	Mittlere Blätter	29. VIII.	5,12	45,5	21,9	2,7	12,3	0,80
	Untere Blätter	29. VIII.	4,45	38,6	17,5	5,3	30,2	1,36
		5. X.	4,03	45,4	35,5	12,0	33,8	2,79
Virginiatabak		2. VII.	2,86	69,2	—	2,8	—	0,47
		24. VII.	5,58	53,6	—	3,1	—	1,01
	Obere Blätter	29. VIII.	6,10	44,6	—	2,0	—	0,71
	Mittlere Blätter	29. VIII.	6,05	39,8	—	3,9	—	1,35
	Untere Blätter	29. VIII.	4,15	39,6	—	6,4	—	1,53
		5. X.	3,96	35.4	—	11,3	—	2,59

Stark gedüngte Tabaksorten.

		Datum	Total-N %	Protein-N %	„Base-N“ %	Nicotin-N %	Prozent von Nicotin-N in „Base-N“ %	Nicotin in Tabak %
Nicotiana rustica		24. VII.	5,47	53,4	17,9	4,8	26,9	1,52
	Obere Blätter	29. VIII.	6,57	35,8	21,6	10,6	49,2	4,05
	Mittlere Blätter	29. VIII.	5,01	29,2	26,7	22,1	82,8	6,40
		5. X.	4,49	40,8	41,7	20,6	49,5	5,84
Ungarischer Tabak		24. VII.	5,29	62,2	10,9	2,5	22,4	0,75
	Obere Blätter	29. VIII.	5,62	52,2	18,4	2,3	12,4	0,74
	Mittlere Blätter	29. VIII.	6,15	42,8	19,4	3,5	17,8	1,23
	Untere Blätter	29. VIII.	5,17	36,4	16,8	5,4	31,2	1,62
		5. X.	4,82	50,4	27,8	8,9	31,9	2,47
Virginiatabak		24. VII.	5,15	64,3	—	4,1	—	1,21
	Obere Blätter	29. VIII.	6,55	43,8	—	3,7	—	0,88
	Mittlere Blätter	29. VIII.	5,90	46,5	—	3,2	—	1,09
	Untere Blätter	29. VIII.	4,17	38,6	—	5,3	—	1,28
		5. X.	4,32	56,7	—	9,1	—	2,26

Übersichtlich können die Resultate so zusammengefaßt werden.

Der Gehalt an totalem N wechselt während des Wachstums, nimmt aber nach der Verpflanzung mit dem Alter der Pflanze ab. Die unteren Blätter enthalten stets weniger Stickstoff als die oberen. Die mittleren stehen dazwischen (ausgenommen stark gedüngter ungarischer Tabak). Der Totalstickstoffgehalt ist stets größer in den stark gedüngten Sorten (ausgenommen die mittleren Blätter des stark gedüngten Virginiatabaks).

Der Gehalt an „Protein-N" nimmt, was die schwach gedüngten Sorten betrifft, mit dem Alter ab. Bezüglich der stark gedüngten Sorten sind die letzten Resultate alle höher als die vom 29. VIII. Man muß sich jedoch hier erinnern, daß die letzte Probe eine Mischprobe ist, die sich mit den drei vom 29. VIII. kaum unmittelbar vergleichen läßt. Das arithmetische Mittel dieser drei Resultate wird doch auch kein wahres Bild des Verhältnisses geben. Es könnte also aussehen, als ob die Pflanze wieder Eiweißstoff zu produzieren anfinge.

Der Nicotingehalt nimmt während des ganzen Wachstums zu, aber nicht stärker, was die stark gedüngten Sorten betrifft. Vielleicht ist die Zunahme bei diesen schneller (siehe Nicotiana rustica und ungarischer Tabak).

„Basen-N" nimmt selbstredend zu, wenn der Nicotingehalt zunimmt. Der Prozentgehalt an Nicotin in „Basen-N" schwankt so stark, daß man hier keinen Anhaltspunkt hat.

Eine Zunahme des Prozentgehaltes an Nicotin durch den Dünger ist nicht nachgewiesen. Dies stimmt mit den Beobachtungen von Schlossing fils[1]) überein. Wenn andere wie A. v. Mayer[2]) und Otto und Kooper[3]) eine freilich nur geringe Zunahme nachgewiesen haben wollen, meine ich, daß ihr statistisches Material zu klein gewesen ist, um mit Sicherheit diese Folgerung ziehen zu können. Etwas anderes ist, daß die stark gedüngten Pflanzen größer als die schwach gedüngten werden und daß der Ertrag an Nicotin per Arealeinheit sich vielleicht erhöhen kann.

---

[1]) Compt. rend. **151**, 23.

[2]) Die landwirtschaftl. Versuchsstat. **38**, (2).

[3]) Landwirtschaftl. Jahrbücher **39**, 397.

A. Pictet[1]) hat gemeint, daß die Alkaloidbildung in den Pflanzen von den Abbauprodukten, Abfallstoffen der Proteinstoffe, welche die Pflanzen unschädlich machten (z. B. durch Methylierung) und darauf in peripherischen Organen anhäuften, herrühren sollte. E. Schulze[2]) kommt zu einem ähnlichen Resultat; jedenfalls meint er, daß gewisse Proteinspaltungsprodukte ausgedehnte Anwendung zum Aufbau der Alkaloide finden[3]). Wenn die Alkaloide auch nicht eigentliche „Fäkalstoffe sind[4]), so wäre bezüglich gewisser Alkaloide ein Zusammenhang zwischen der Bildung derselben und der Proteinspaltung immerhin möglich. Aus den Analysenresultaten läßt sich auf einen solchen nicht mit Sicherheit schließen.

Es würde jedoch von Interesse sein, eine eingehende Kenntnis von allen stickstoffhaltigen Bestandteilen des Tabaks zu gewinnen. Pictet[5]) und Rotschy fanden außer Nicotin: Nicotein, Nicotimin und Nicotellin; sie sind alle flüchtige, mit Nicotin verwandte Basen. Der Gehalt an diesen drei Alkaloiden ist jedoch sehr gering. Von Stoffen, von denen es denkbar wäre, daß sie als Baumaterial für Nicotin dienen, haben Pictet und Court[6]) Pyrrolidin und N-Methylpyrrolin gefunden (Pictet nennt diese Stoffe „Protoalkaloide"). Ferner haben Ciamician und Ravenna[7]) Isoamylamin und Deleano und Trier[8]) Betaïn gefunden. Alle diese Stoffe werden durch Phosphorwolframsäure gefällt, aber der Gehalt daran ist so gering, daß von einer genauen Bestimmung derselben nicht die Rede sein kann. Es würde jedoch von Interesse sein, zu erfahren, ob dieser Niederschlag durch Phosphorwolframsäure größere Mengen an anderen Stoffen außer Ammoniak und den obengenannten Verbindungen enthält. Ebenso würde die Kenntnis von den Proteinstoffen des Tabaks und deren Spaltungsprodukten von Bedeutung sein. In dieser Arbeit ist Ammoniak in Tabaksblättern

---

[1]) Arch. d. Pharmazie **244**, 389 und Pharm. Zeitg. **1905**, 896 und 908.

[2]) Landwirtschaftl. Jahrbücher **35**, 646.

[3]) Zur Übersicht über die Frage s. G. Trier, Über einfache Pflanzenbasen. Berlin 1912.

[4]) Gadamer, Ber. d. Deutsch. pharm. Ges. **1914**, 35.

[5]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **34**, 697.

[6]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **40**, 3779.

[7]) Annal. d. Chimie et d. Physique **25**, série 8.

[8]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**, 243.

nicht bestimmt, da die dafür angegebenen Methoden[1]) mir zu unsicher scheinen. Ich hoffe, im Laufe des Sommers auf diese Verhältnisse zurückzukommen.

Bevor ich diese kleine Mitteilung schließe, ist es meine Schuldigkeit, dem Herrn Prof. Dr. F. Kölpin-Ravn, der mich auf diese Unsersuchungen gelenkt hat, dem Versuchsleiter Herrn E. Lindhard, Tystofte, der mich vielfach beraten und mir geholfen hat, und endlich meinem Chef, dem Herrn Prof. Christensen, der mir Zeit und Gelegenheit samt guten Ratschlägen gegeben hat, meinen Dank auszusprechen.

---

[1]) Landwirtschaftl. Versuchsstation 1903, 274 und diese Zeitschr. 56, 220.

Darstellung des Harnindicans.

II. Mitteilung[1]).

Von

Erw. Schwenk und Ad. Jolles.

(Eingegangen am 3. März 1916.)

Vor kurzem beschrieben wir ein Verfahren zur Darstellung des indoxylschwefelsauren Kaliums (Harnindicans), das aber nur eine sehr geringe Ausbeute ergab. Die inzwischen erlangte nähere Kenntnis der Eigenschaften dieser Substanz, insbesondere ihres Verhaltens in Lösungen ermöglichte es uns, das an obengenannter Stelle beschriebene Verfahren bedeutend zu vereinfachen und zugleich auch die Ausbeute zu erhöhen. Das Harnindican ist so zu einem leicht zugänglichen Körper geworden.

Allerdings gelang es auch nach dem früheren Verfahren, ein ziemlich reines Produkt in etwas größerer Ausbeute zu erhalten, als in der zitierten Veröffentlichung beschrieben. Wir erhielten schließlich 0,62 g Präparat aus 5 g N-Acetindoxyl, das, wie die folgende Analyse zeigt, zu 98,8% aus Indican bestand.

0,2150 g Substanz gaben 0,1973 g $BaSO_4$.
Gefunden 37,7% SO_4.
Berechnet für $C_8H_6NO_4SK$ 38,22%.

Als eigentliche Ursache der schlechten Ausbeute dieser Versuche sehen wir die Extraktion der zur Trockne gebrachten Salze an. Bei der langen Dauer der Extraktion im Soxhlet geht einmal das Indican nur in sehr geringen Mengen in Lösung, da ja nur kalter Alkohol mit dem Extraktionsgut in

[1]) I. Mitteilung siehe Ad. Jolles und Erw. Schwenk, diese Zeitschr. 68, 347, 1915.

Berührung kommt. Andererseits werden wieder die geringen extrahierten Mengen in der kochenden Alkohollösung leichter zerstört. Es wurde daher die Aufarbeitung der Reaktionsmasse abgeändert. Tatsächlich ergab sich hierdurch auch eine bedeutende Erhöhung der Ausbeute. Schließlich ist es nun auch gelungen, das erhaltene Präparat von anorganischen Beimengungen frei zu erhalten, so daß wir zu, auch analytisch vollständig reinem Indican gelangt sind.

Wir verfahren nunmehr folgendermaßen: Man trägt unter Rührung in gut gekühltes Pyridin (etwa 50 bis 60 g) 15 g Schwefelsäurechlorhydrin in kleinen Anteilen ein. Die so entstehende Doppelverbindung von Pyridin und Chlorsulfonsäure krystallisiert zum Teil aus, was aber den weiteren Prozeß nicht hindert. Zu dieser Aufschwemmung gibt man 5 g N-Acetindoxyl in möglichst wenig Pyridin gelöst hinzu und rührt mit einem Glasstab durch, um die Doppelverbindung gut mit dem zugesetzten Acetindoxyl in Berührung zu bringen. Das Gemisch läßt man zwei Stunden im Brutschrank von 38° und hierauf noch etwa 40 Stunden bei Zimmertemperatur (16 bis 18°) stehen. Manchmal füllt sich die ganze schön rot gewordene Flüssigkeit mit feinen Nadeln von Pyridinhydrochlorid. Nach der angegebenen Zeit ist die Reaktion zu Ende — d. h. ein Tropfen der Flüssigkeit gibt beim Verdünnen mit Wasser und nach Zusatz von etwas Natronlauge beim Schütteln keine Blaufärbung von Indigo mehr. Nun wird mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und in einen Fraktionierkolben übergeführt, aus dem man im Wasserbad von nicht über 40° das Pyridin bei 13 mm Druck möglichst vollständig abdestilliert. Die Flüssigkeit, die dunkelbraun gefärbt ist, wird mit einer Auflösung von 26 gr KOH in wenig Wasser versetzt und gut umgeschüttelt. Es ist das etwas mehr, als die auf die angewandte Chlorsulfonsäure berechnete Menge. Dabei scheidet sich ein feinkörniger Niederschlag von Kaliumsulfat aus, den man am besten gleich durch Absaugen entfernt. Darauf leitet man aus einer Bombe einige Zeit Kohlensäure durch die Flüssigkeit, um den Überschuß an Kaliumhydrat möglichst zu binden, kocht dann unter Zusatz einer möglichst geringen Menge von ganz reiner Tierkohle kurz auf und filtriert. Die weitere Verarbeitung geschieht am besten so, daß man die ganze Flüssig-

keit im Faust-Heimschen Trockenapparat bei etwa 20 bis 22° abdunstet, bis nur eine geringe Flüssigkeitsmenge vorhanden ist. Sollte ein solcher Trockenapparat fehlen, so muß man im Vakuum wie oben beschrieben eindampfen, was aber durch die schließlich sich abscheidenden Salze sehr erschwert wird. Dabei krystallisiert das Indican zuerst, noch vor dem Kaliumchlorid aus und kann durch Absaugen von der Mutterlauge, die durch Zersetzung tiefbraun gefärbt ist und den charakteristischen Geruch des Indols zeigt, befreit werden. Man erhält das Präparat ganz rein, wenn man es in wenig Wasser aufmischt, so daß der größte Teil ungelöst bleibt, und kurz aufkocht. Dabei geht das ganze Kaliumchlorid in Lösung und das beim Erkalten wieder auskrystallisierte Indican ist frei davon. Am besten ist es, unter starker Kühlung das Indican auszurühren und nicht durch freiwillige Krystallisation große Krystalle zu züchten, weil so das Präparat reiner wird. Zur vollständigen Reinigung wird es möglichst fein gepulvert und mit 96%igem kochendem Alkohol behandelt. Es fällt dann aus der heißen alkoholischen Lösung beim Erkalten in den charakteristischen quadratischen, prächtig perlmutterartig glänzenden Schüppchen aus. Die obenerwähnten wässerigen Mutterlaugen vereinigt man am besten und dampft sie ganz ein. Der noch feucht mit Alkohol extrahierte Rückstand gibt ein Präparat, das noch etwas Kaliumchlorid enthält. Durch Umkrystallisieren aus Alkohol ist dieses nicht zu entfernen, da es hartnäckig vom Indican festgehalten wird, und man muß dann, wie oben beschrieben, verfahren. Zur Not kann man die Lösungen, insbesondere in kleineren Mengen, im Wasserbad eindampfen, doch färben sich die Lösungen dann tiefbraun, und man kann am charakteristischen Geruch des Indols die Zersetzung wahrnehmen[1].

Aus 5 g N-Acetindocyl erhielten wir 5,5 g Indican, was einer Ausbeute von etwa 76% der Theorie entspricht.

Das reine Präparat krystallisiert in schönen weißen glänzenden Schüppchen, die sich bei 179 bis 180° zersetzen.

---

[1]) Wir versuchten auch durch Fällung mit Silbersulfat das Kaliumchlorid zu entfernen. Man kann das zwar erreichen, doch scheint es, als ob Spuren von Silbersalz die Krystallisation behinderten; überdies war dieses Präparat denn auch lichtempfindlich.

Es zeigt die in der Literatur angegebenen Eigenschaften des Harnindicans. Es ist durchaus beständig und läßt sich selbst im Licht durch längere Zeit aufbewahren.

Die Analyse der im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergab:

0,1469 g Substanz gaben 0,1361 g $BaSO_4$.
Berechnet 38,22 % SO_4''.
Gefunden 38,13 % SO_4''.

0,2900 g Substanz gaben 13,9 ccm N_2 bei 19° und 762 mm.
Berechnet 5,58 % N_2.
Gefunden 5,50 % N_2.

Berichtigung

zum Beitrag „Voigt, Über die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers im Säugetierkörper. III"

(diese Zeitschr. 68, 477, 1915).

Die Figur 1 auf Seite 483 der Arbeit muß Figur 2, und die Figur 2 demgemäß Figur 1 benannt werden.

Autorenverzeichnis.

